GE Healthcare

# Colonne BPG

Istruzioni per l'uso

## Informazioni importanti per l'utilizzatore

Per un corretto e sicuro impiego delle colonne BPG gli utilizzatori devono leggere con attenzione e completamente il presente manuale come pure il "BPG Columns Maintenance Guide".

Amersham Biosciences AB, conosciuta in precedenza come Amersham Pharmacia Biotech AB, assume il suo attuale nome a partire dal 17 ottobre 2001.

## Certificazione CE

Questo prodotto è conforme a tutti i requisiti delle Direttive CE applicabili.

Il simbolo **CE** e la corrispondente dichiarazione di conformità è valida per lo strumento quando:

- viene usato da solo, oppure
- è collegato ad altri strumenti Amersham Biosciences marcati CE, oppure
- è collegato ad altri prodotti raccomandati o descritti in questo manuale e
- viene usato nelle stesse condizioni in cui è stato consegnato da Amersham Biosciences, con l'eccezione delle modifiche descritte in questo manuale.

## Termini e condizioni di vendita

Tutti i beni e servizi sono venduti nei termini e condizioni di vendita stabiliti dall'azienda a meno che ciò non sia stato concordato diversamente per iscritto con il gruppo Amersham Biosciences che li fornisce. Su richiesta è disponibile una copia dei termini e condizioni.

# Precauzioni di sicurezza

**IMPORTANTE!**
Tutte le volte che si usa una colonna, tenere sempre a portata di mano il manuale di Istruzioni per l'uso.

**IMPORTANTE!**
L'utente finale deve verificare che tutte le procedure di installazione, manutenzione, funzionamento e ispezione siano eseguite da personale qualificato adeguatamente addestrato ed in grado di comprendere le istruzioni operative

**AVVERTENZA!** Per assicurare la protezione personale durante il funzionamento, utilizzare sempre gli indumenti protettivi adeguati all'applicazione in corso.

**AVVERTENZA!** Fare molta attenzione quando si opera vicino alla colonna.

**AVVERTENZA!** All'interno della colonna non ci dovrà MAI essere aria o gas sotto pressione.

**AVVERTENZA!** La pressione operativa della colonna non dovrà mai superare la pressione prevista nelle specifiche altrimenti vi è il rischio di lesioni personali e danni alla colonna. Installare un idoneo dispositivo di sicurezza.

**AVVERTENZA!** L'intervallo di temperatura operativa della colonna non deve andare oltre l'intervallo di temperatura operativa previsto nelle specifiche.

**AVVERTENZA!** Non usare sostanze chimiche diverse da quelle accertate come non dannose per le parti della colonna a contatto con gli eluenti.

**AVVERTENZA!** Durante il funzionamento o lo stoccaggio, attivare sempre i freni delle ruote.

**AVVERTENZA!** Fare molta attenzione quando si sposta la colonna per evitare che possa rovesciarsi.

**ATTENZIONE!** Verificare che tutta l'acqua usata nella colonna sia priva di particelle poiché queste possono bloccare e danneggiare i net.

# Sommario


**1 Introduzione ..... 1**
1.1 Informazioni generali ..... 1
1.2 Etichettatura della colonna ..... 3
1.3 Sicurezza ..... 3
*1.3.1 Informazioni generali ..... 3*
*1.3.2 Avvertenze ..... 4*
*1.3.3 Note di Attenzione ..... 4*
*1.3.4 Note ..... 4*
*1.3.5 Resistenza chimica ..... 4*
*1.3.6 Utilizzo in atmosfera potenzialmente esplosiva ..... 4*
1.4 Operatori autorizzati ..... 5
1.5 Stoccaggio ..... 5
1.6 Riciclaggio e smaltimento ..... 5
*1.6.1 Materiali e sostanze ..... 5*
*1.6.2 Colonne BPG ..... 6*
1.7 Scopo di questo manuale ..... 6

**2 Disimballaggio della colonna ..... 7**

**3 La colonna BPG ..... 9**
3.1 Specifiche e caratteristiche ..... 9
3.2 Materiali della colonna ..... 10
3.3 Resistenza chimica ..... 10
3.4 Diagrammi pressione/velocità di flusso ..... 12
*3.4.1 Diagrammi pressione/velocità di flusso per colonne vuote ..... 13*
*3.4.2 Diagrammi pressione/velocità di flusso per colonne impaccate ..... 14*

**4 Installazione e test di tenuta ..... 17**
4.1 Smontaggio e assemblaggio ..... 17
*4.1.1 BPG 100, 140 e 200 ..... 17*
*4.1.2 BPG 300 ..... 23*
*4.1.3 BPG 450 ..... 28*
4.2 Connessioni ..... 31
4.3 Messa a terra della colonna ..... 31
4.4 Test di tenuta ..... 32

**5 Funzionamento ..... 33**
5.1 Impaccaggio della colonna ..... 33
*5.1.1 Quantità di fase stazionaria per altezza di letto in cm ..... 34*
*5.1.2 Prorosità del net raccomandate ..... 34*
*5.1.3 Determinazione della velocità di flusso di impaccaggio ottimale ..... 35*
*5.1.4 Velocità di flusso raccomandate per le fasi stazionarie Amersham Biosciences ..... 41*
*5.1.5 Metodo di impaccaggio della colonna ..... 41*
5.2 Valutazione della colonna ..... 46
*5.2.1 Scelta del campione per il test delle colonne ..... 47*
*5.2.2 Calcolo HETP ..... 47*
*5.2.3 Calcolo del fattore di asimmetria del picco ..... 49*

**6 Abbreviazioni ..... 51**

# 1 Introduzione

## *1.1 Informazioni generali*

Le colonne BPG sono concepite per applicazioni industriali che richiedono alti standard di igiene. Le colonne sono disponibili per volumi di fase stazionaria per cromatografia fino a 131 litri e consentono l'utilizzo di elevate velocità di flusso.

Quando le colonne BPG vengono usate assieme ai BioProcess Media, come ad esempio Sepharose Fast Flow e Sephacryl High Resolution, si possono soddisfare anche i requisiti normativi più severi. I materiali con cui sono prodotte le colonne BPG, sono stati attentamente selezionati per poter resistere a sostanze disinfettanti e detergenti come l'idrossido di sodio e l'etanolo.

Le specifiche di pressione e la bassa resistenza al flusso rendono queste colonne adatte all'uso con i BioProcess media in cromatografia a scambio ionico, di interazione idrofobica, di affinità e in gel filtrazione. Si può inoltre eseguire efficacemente il desalting con Sephadex G-25 Coarse, Medium, Fine e SuperFine. Il sistema di distribuzione del flusso è stato sviluppato per essere compatibile con le elevate prestazioni delle fasi stazionarie della Amersham Biosciences.

Tutte le colonne BPG vengono fornite complete di adattatore. Per applicazioni che richiedano altezze di letto elevate sono disponibili le estensioni dell'impaccaggio.

In questo manuale vengono inoltre descritti i protocolli di assemblaggio e di impaccaggio delle colonne con i BioProcess Media. Una sezione speciale della Guida alla manutenzione delle colonne BPG (Capitolo 1) viene dedicata ai protocolli di manutenzione applicabili alle specifiche esigenze di processo.

Le tre parti principali di cui è costituita la colonna (adattatore, componenti della colonna e supporto) sono mostrati, nei disegni esplosi, alla fine di questo manuale.

I componenti di base della colonna sono:

- Tubo di vetro
- Flangia
- O-ring
- Filter net
- Support net
- Estremità inferiore
- Aste

Le aste mantengono unita la flangia e l'estremità inferiore al tubo di vetro che viene sigillato con gli O-ring. Gli O-ring isolano in modo efficace il tubo di vetro da un contatto diretto con i componenti in acciaio inossidabile. La piastra superiore dell'adattatore ed il dado regolatore sono serrati o imbullonati sulla flangia della colonna. Il dado regolatore può ruotare su un anello a boccola posto sulla piastra superiore, modificando l'altezza della piastra dell'adattatore sul tubo della colonna. L'O-ring dell'adattatore forma una tenuta fra l'adattatore e la colonna di vetro quando viene compresso dal dispositivo di tenuta che è controllato dalla manopola di regolazione della tenuta. Il supporto è serrato all'estremità inferiore della colonna ed è dotato di ruote con freni a pedale.

***Nota:*** *Le colonne BPG 100 hanno piedini regolabili. Le ruote possono essere ordinate come opzione.*

Le colonne BPG non devono essere usate per nessun altro scopo, come ad esempio:

- Contenitori per la conservazione di sostanze chimiche, ecc.
- Contenitori generici a pressione.
- Recipienti di fermentazione
- Conservazione di gas.

## 1.2 Etichettatura della colonna

Il marchio CE sull'etichetta di identificazione mostra che la colonna è conforme ai requisiti della Direttiva Europea sui dispositivi di pressione (PED) 97/23/EC e/o alla direttiva sulle apparecchiature operanti in atmosfere potenzialmente deflagranti (ATEX100) 94/9/EC. Le colonne il cui prodotto del volume e della pressione ammessi sia troppo limitato non devono essere contrassegnate con marchio CE in base alla direttiva PED. L'apparecchiatura venduta al di fuori della Comunità Europea può non essere marcata CE.

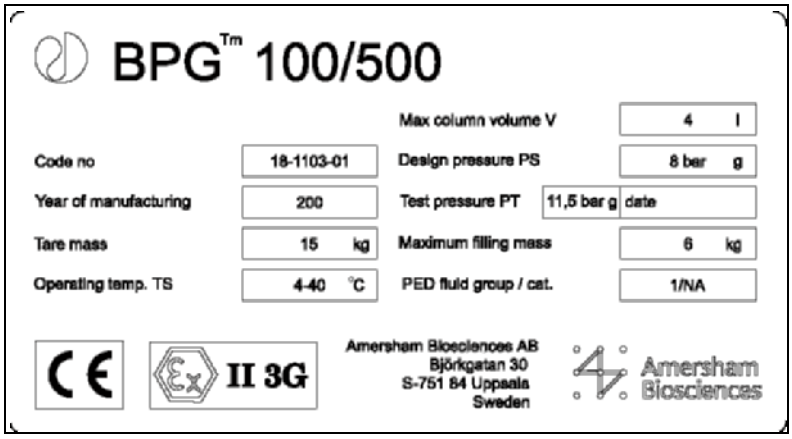


**Fig 1-1.** Piastrina dei dati di funzionamento della colonna BPG.

## 1.3 Sicurezza

### 1.3.1 Informazioni generali

Le informazioni fornite in queste Istruzioni per l'uso sono suggerite sulla base delle migliori pratiche operative ma in nessun modo possono avere la precedenza sulle responsabilità individuali e la regolamentazione locale. Nella fase di progettazione e di realizzazione delle varie parti dell'apparecchiatura sono stati fatti grandi sforzi affinché le parti fossero conformi a tutte le normative di sicurezza applicabili per questo tipo di apparecchiatura. Durante il funzionamento e durante altre attività con contenitori sotto pressione, il singolo operatore ha comunque la responsabilità di prendere in considerazione:

- la propria sicurezza e quella degli altri.
- la sicurezza dell'apparecchiatura attraverso un uso corretto in base alle descrizioni e istruzioni presentate in queste Istruzioni per l'Uso.

### 1.3.2 Avvertenze

**AVVERTENZA!** Il simbolo di Avvertenza mette in risalto istruzioni che devono essere assolutamente seguite per evitare lesioni personali. Non procedere fino a quando non sono state comprese chiaramente le istruzioni e non sono state rispettate tutte le condizioni richieste.

### 1.3.3 Note di Attenzione

**ATTENZIONE!** Il segno di Attenzione mette in risalto istruzioni o condizioni che devono essere seguite per evitare danni al prodotto o ad altre attrezzature. Non procedere fino a quando non sono state comprese chiaramente le istruzioni e non sono state rispettate tutte le condizioni richieste.

### 1.3.4 Note

***Note:*** *La NOTA viene usata per indicare informazioni importanti onde evitare guasti e per assicurare un uso ottimale del prodotto.*

### 1.3.5 Resistenza chimica

Le specifiche con i valori di resistenza chimica sono presentate nel Capitolo 3 di queste istruzioni per l'Uso.

### 1.3.6 Utilizzo in atmosfera potenzialmente esplosiva

Le colonne BPG non contengono nessun circuito elettrico. Tuttavia, attenersi sempre alle seguenti precauzioni d'uso:

- Per evitare scariche da elettricità statica mettere la colonna a terra. Usare un filo di messa a terra connesso alla rete di messa a terra dell'impianto. È disponibile come accessorio un kit per la messa a terra.
- Durante le procedure di funzionamento e di manutenzione usare solo strumenti destinati all'uso in atmosfere potenzialmente deflagranti.
- Usare sempre indumenti idonei durante le attività lavorative in atmosfere potenzialmente deflagranti.

*Marchio EX*
Il codice EX sull'etichetta di identificazione consente di definire il livello di protezione antiesplosione dello strumento. La categoria EX dello strumento deve essere conforme al livello di protezione del locale in cui viene utilizzato.

*Ex II 3 G*
La strumentazione appartenente a questa categoria è progettata in modo da poter funzionare conformemente ai parametri operativi stabiliti dal produttore e di garantire un livello di protezione normale. La strumentazione appartenente a questa categoria è destinata all'uso in aree in cui è molto improbabile la generazione di atmosfere deflagranti a causa di gas, vapori o aerosol o, se ciò si verificasse, ciò avverrebbe solo raramente ed esclusivamente per brevi periodi di tempo.

## 1.4 Operatori autorizzati

La colonna BPG è uno strumento che può essere comparato ad un contenitore a pressione a volume variabile. Gli operatori devono avere esperienza di lavoro con i contenitori a pressione e con pure con attrezzature atte a generare sostanze sotto pressione per il controllo dell'impaccaggio mediante compressione assiale. Per poter utilizzare correttamente e con sicurezza la colonna, l'operatore dovrà aver letto, compreso ed aver familiarizzato completamente con le "Istruzioni per l'uso" in generale e con le istruzioni di sicurezza in particolare. Una messa in funzione non corretta della colonna può comportare danni alla proprietà e lesioni personali.

## 1.5 Stoccaggio

La colonna va conservata alla temperatura indicata nelle specifiche e non dovrà essere esposta a marcati sbalzi di temperatura. Un tampone consigliato per lo stoccaggio è etanolo al 20%.

## 1.6 Riciclaggio e smaltimento

Quando la colonna raggiunge la fine del suo ciclo di vita, va trattata in conformatià alla legislazione e normativa vigenti in materia di riciclaggio e smaltimento di attrezzature industriali. Questo aspetto è responsabilità dell'utente finale o equivalente. In caso di domande su problematiche ambientali o sulla legislazione vigente sul riciclaggio e smaltimento di attrezzature industriali di questo tipo rivolgersi alle autorità locali.

### 1.6.1 Materiali e sostanze

In genere i materiali da smaltire vengono suddivisi nelle seguenti categorie:

- Infiammabili
- Legno
- Composti ( ad esempio rivestimento in plastica o in laminato)
- Carta
- Non infiammabili
- Metalli

***Nota:*** *I metalli che sono pericolosi o che contengono sostanze pericolose (ad esempio piombo, cadmio, mercurio ecc) devono essere separati e smaltiti in modo controllato.*

- I materiali plastici vengono separati fra pastiche dure (indurite) e morbide (termoplastiche).
- Materiali di compostaggio (tutti i materiali/sostanze che possono essere successivamente trasformati in terreno).
- Materiali in deposito (una piccola quantità di materiali e sostanze non idonee al riciclaggio vanno messe in deposito. Le informazioni sulle località per il deposito vengono fornite dalle autorità locali).

### 1.6.2 Colonne BPG

Prima dello smaltimento dell'attrezzatura della colonna, ricordarsi di:

- Svuotare, pulire e sterilizzare la colonna.
- Per metalli non infiammabili come acciaio inossidabile, rivolgersi ad una ditta per il recupero dei materiali ferrosi.

## *1.7 Scopo di questo manuale*

Questo manuale è inteso come una introduzione generale ed una guida al funzionamento della colonna. In particolare il manuale tratterà dei seguenti argomenti:

- Introduzione (Capitolo 1)
- Disimballaggio della colonna (Capitolo 2)
- La colonna BPG (Capitolo 3)
- Installazione e test di tenuta (Capitolo 4)
- Funzionamento (Capitolo 5)
- Abbreviazioni (Capitolo 6)

Il manuale accluso, "Guida alla manutenzione delle colonne BPG", tratta dei seguenti argomenti:

- Manutenzione e assistenza (Capitolo 1)
- Guida all'individuazione dei guasti (Capitolo 2)
- Informazioni per l'ordine (Capitolo 3)

# 2 Disimballaggio della colonna

Disimballare con cura lo strumento e controllare se vi sono segni di danni eventualmente causati dal trasporto.

La seguente Tabella 2-1 riporta i numeri di codice dei tubi cromatografici e dei supporti per i vari diametri di colonna: controllare i numeri di codice della nuova attrezzatura per verificarne la corrispondenza.

**Tabella 2-1.** Numeri di codice per tubi cromatografici e supporti di colonna.

| Diametro della colonna (mm) | Altezza del tubo cromatografico (mm) | | | Supporto |
|---|---|---|---|---|
| | 500 | 750 | 950 | |
| 100 | 18-1103-01 | 18-1103-02 | 18-1103-03 | 18-1031-10 |
| 140 | 18-1113-08 | 44-7320-47 | 18-1113-09 | 18-1031-20 |
| 200 | 18-1103-11 | 18-1103-12 | 18-1103-13 | 18-1031-20 |
| 300 | 18-1103-21 | 18-1103-22 | 18-1103-23 | - |
| 450 | 18-1103-71 | 18-1103-72 | 18-1103-73* | - |

* L'altezza del tubo della colonna BPG 450 è 1000 mm.

***Nota:*** *Per ottenere una configurazione completa per BPG 100, 140 e 400 vanno ordinati sia il supporto che la colonna.*

Controllare che siano presenti tutti i componenti elencati nella seguente Tabella 2-2.

**Tabella 2-2.** Quantità di componenti forniti con colonne BPG.

| Designazione | Quantità | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | BPG 100 | BPG 140 | BPG 200 | BPG 300 | BPG 450 |
| Flangia cieca con guarnizione, EPDM | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Clamp da 23 mm, 51 mm | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Supporto | - | - | - | 1 | 1 |
| 23 Net da µm | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Bulloni per il fissaggiodel supporto alla colonna | - | - | - | 6 | 4 |
| Istruzioni per l'uso/manutenzione | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

# 3 La colonna BPG

In questo capitolo vengono presentate informazioni di riferimento sulle specifiche e caratteristiche delle colonne BPG.

## *3.1 Specifiche e caratteristiche*

**Tabella 3-1.** Specifiche e caratteristiche principali delle colonne BPG.

| Diametro della colonna (mm) | Area della sezione trasversale ($cm^2$) | Altezza del tubo (cm) | Altezza del letto[1,3] (cm) min max | Volume del letto[1,3] (litri) min max | Pressione massima[1] (bar) | Peso totale (kg) | Peso dell'adattatore (kg) | Dimensioni globali (cm) L x L x A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 100 | 79 | 50 | 0 26 (48) | 0,0 2,0 (3,8) | 8 | 15 | 7 | 48 x 48 x 127 |
| 100 | 79 | 75 | 25 41 (66) | 2,0 3,2 (5,2) | 8 | 16 | 7 | 48 x 48 x 152 |
| 100 | 79 | 95 | 45 54 (83)[4] | 3,5 4,2 (6,6) | 8 | 17 | 7 | 48 x 48 x 172 |
| 140 | 154 | 50 | 0 26 (48) | 0,0 4,0 (7,4) | 6 | 25 | 11 | 59 x 59 x 127 |
| 140 | 154 | 75 | 25 41 (66) | 3,9 6,3 (10,2) | 6 | 26 | 11 | 59 x 59 x 152 |
| 140 | 154 | 95 | 45 54 (83) | 6,9 8,3 (12,8) | 6 | 27 | 11 | 59 x 59 x 172 |
| 200 | 314 | 50 | 0 26 (48) | 0,0 8,2 (15,1) | 6 | 34 | 13 | 59 x 59 x 127 |
| 200 | 314 | 75 | 25 41 (66) | 7,3 12,9 (20,7) | 6 | 36 | 13 | 59 x 59 x 152 |
| 200 | 314 | 95 | 45 54 (83)[4] | 14,1 16,9 (26,1) | 6 | 39 | 13 | 59 x 59 x 172 |
| 296 | 688 | 50 | 0 26 (48) | 0,0 17,9 (33,0) | 4 | 68 | 29 | 69 x 69 x 133 |
| 296 | 688 | 75 | 25 41 (66) | 17,2 28,7 (45,4) | 4 | 73 | 29 | 69 x 69 x 158 |
| 296 | 688 | 95 | 45 54 (83)[4] | 31,0 37,2 (57,1) | 4 | 78 | 29 | 69 x 69 x 178 |
| 446 | 1562 | 50 | 3 23 (42) | 4,7 35,9 (65,6) | 2,5 | 200 | 100 | 80 x 80 x 140 |
| 446 | 1562 | 75 | 22 39 (58) | 34,4 60,9 (90,6) | 2,5 | 215 | 100 | 80 x 80 x 165 |
| 446 | 1562 | 100 | 47 58 (83)[4] | 73,4 90,6 (131,2)[5] | 2,5 | 230 | 100 | 80 x 80 x 190 |

[1] I volumi del letto massimi e minimi e le altezze del letto si basano su una concentrazione della sospensione di resina del 70% ed una compressione di impaccaggio del 15%. La compressione è data dalla differenza in volume fra un letto sedimentato ed un letto sotto pressione.

[2] Usare un manometro per monitorare la pressione (per gli ordini, vedi Cap. 3 nella Guida di manutenzione della colonna BPG).

[3] I valori fra parentesi si possono ottenere usando una estensione per l'impaccaggio.

[4] Il volume massimo e minimo del letto e le altezze del letto si basano su una concentrazione della sospensione di resina del 80% ed una compressione di impaccaggio del 15%.

[5] Il volume massimo e minimo del letto e le altezze del letto si basano su una concentrazione della sospensione di resina del 85% ed una compressione di impaccaggio del 15%.

La temperatura operativa per le colonne BPG è 4/40°C

**Tabella 3-2.** Dimensioni degli ingressi e delle uscite sulle colonne BPG.

| | Dimensione della colonna | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **100** | **140** | **200** | **300** | **450** |
| Dimensioni I/O, mm | 4 | 6 | 6 | 10 | 12 |

## *3.2 Materiali della colonna*

I materiali usati nella preparazione delle colonne BPG sono stati attentamente selezionati per la loro compatibilità con i solventi più comunemente usati nelle procedure di separazione cromatografica di molecole biologiche, nella conservazione e nel lavaggio della colonna. I materiali polimerici sono stati sottoposti a test per la reattività biologica in base a USP XXIII. I materiali sono stati testati in vitro in base al "Test di eluizione" ed in vivo in base al "Test di iniezione sistemica" e al "Test intracutaneo". Nei test in vivo sono stati utilizzati come campioni estratti in NaCl 0,9% e olio di sesamo. Tutti i materiali soddisfano i requisiti descritti in USP XXIII, Classe VI.

I componenti della colonna possono contenere parti che vengono a contatto con i liquidi di processo, parti umide e parti asciutte. Tutti i materiali di costruzione sono di elevato grado di qualità tale da soddisfare i requisiti richiesti da un ambiente di produzione industriale. Le Tabelle A-1, A-2 e A-3 in Appendice, illustrano i componenti delle colonne e identificano i materiali di costruzione sia delle parti a contatto con i liquidi che non.

## *3.3 Resistenza chimica*

La Tabella 3-3 costituisce una guida per la resistanza ai solventi dei materiali usati sulle colonne BPG. Le informazioni sono state redatte sulla base di informazioni pubblicate da varie fonti, non da test singoli condotti sui componenti della colonna. L'operatore dovrà pertanto usare questo elenco solo come una guida al livello di resistenza chimica fornito da ogni materiale. Va notato che gli effetti di una sostanza chimica saranno più gravi a temperature e pressioni più elevate e che non sono stati presi in considerazione gli effetti combinati.

In generale, sulle colonne BPG va evitato l'uso delle seguenti sostanze chimiche:

- Ossidanti estremi (come i perossidi)
- Composti alogenati
- Solventi clorati (come ad esempio il cloruro di metilene)
- Esteri (come gli acetati)
- Idrocarburi aromatici (come toluene)

- Elevate concentrazioni di acidi forti
- Cloroformio
- THF
- Toluene
- Cloruro di metilene

***Note:*** *Evitare sale in combinazione con un pH inferiore a 4. Lavare sempre la colonna con almeno due volumi di colonna di soluzione a pH neutro fra l'impiego di un sale e di tamponi a basso pH.*

**Tabella 3-3.** Tabella della resistenza chimica dei materiali nelle.

| Sostanza | Concentrazione per volume | 60–90 giorni [1] |
|---|---|---|
| Acetato di etile | 100% | vedi nota 4 |
| Acetone | 10% | OK |
| Acetonitrile | 5% | vedi nota 2 |
| Acetonitrile | 50% | vedi note 3, 4 |
| Acido acetico | 10% | vedi nota 7 |
| Acido acetico | 25% | vedi nota 7 |
| Acido cloridrico | 0,1 M | vedi note 6, 7 |
| Acido nitrico | 0,1 M | vedi nota 7 |
| Acido trifluoroacetico | 0,1% | vedi note 7, 8 |
| Alcol isopropilico | 100% | vedi nota 2 |
| Cicloesano | 100% | vedi note 3, 4 |
| Cloruro di sodio | 2 M | vedi nota 5 |
| Esano | 100% | vedi note 2, 7 |
| Etanolo | 100% | vedi nota 2 |
| Glicerolo | 100% | OK |
| Glicole etilenico | 50% | OK |
| Idrossido di sodio | 2 M | OK |
| Metanolo | 100% | OK |
| n-Propanolo | 100% | OK |
| Triton ® X-100 | 100% | OK |
| Tween/Tri-n-butilfosfato | 1% / 0,3% | OK |
| UREA | 8 M | OK |

[1] Il test non comprende tubi in PVC.

[2] La gomma EPDM subisce modifiche alle sue caratteristiche. Per un impiego ripetuto e a lungo termine, usare O-ring e guarnizioni in FEP/PFR/PTFE.

[3] Passare a O-ring e guarnizioni in FEP/PFR/PTFE.
[4] La resistenza del polipropilene è buona.
[5] Può essere utilizzato nelle normali condizioni di corsa cromatografica. Non usare NaCl nelle soluzioni di stoccaggio. Va notato che NaCl può provocare corrosioni sull'acciaio inossidabile in soluzioni acide (pH sotto a 4,0).
[6] Non oltre le 4 ore.
[7] Non è consigliato l'uso con net in PA.
[8] FEP cambia le proprie caratteristiche. Quindi usare gomma EPDM.

## 3.4 *Diagrammi pressione/velocità di flusso*

In generale, è molto difficile produrre diagrammi pressione/velocità di flusso in modo teorico. I può accurati diagrammi pressione/velocità di flusso si costruiscono in modo sperimentale. La Figura 3-1 illustra la configurazione tipo utilizzata nei laboratori Amersham Biosciences per generare i diagrammi pressione/velocità di flusso.

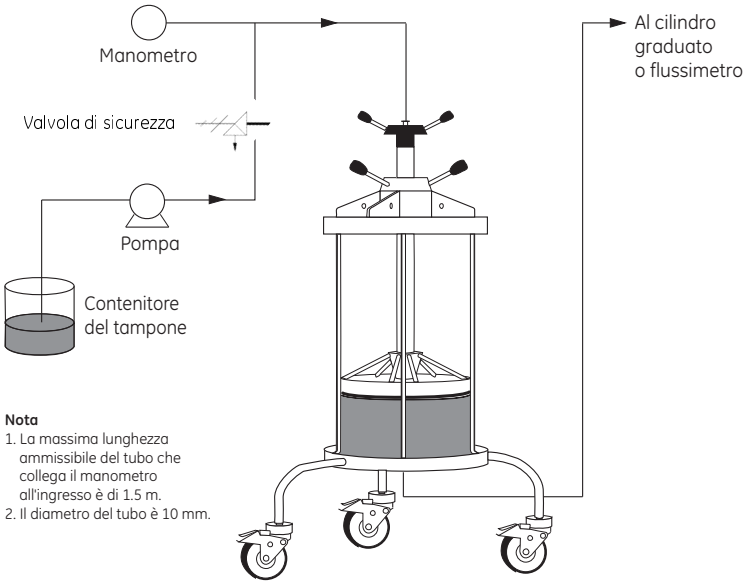
Manometro
Valvola di sicurezza
Pompa
Contenitore del tampone
Al cilindro graduato o flussimetro
Nota
1. La massima lunghezza ammissibile del tubo che collega il manometro all'ingresso è di 1.5 m.
2. Il diametro del tubo è 10 mm.

**Fig 3-1.** Tipica impostazione per determinare i diagrammi pressione/velocità di flusso. NOTA: La colonna contiene solo tampone. Il flusso in uscita deve essere allo stesso livello del manometro.

### 3.4.1 Diagrammi pressione/velocità di flusso per colonne vuote

Le Figure 3-2 e 3-3 illustrano i diagrammi pressione/velocità di flusso delle colonne BPG vuote ottenute usando il metodo fornito nella sezione 5.1.3 di questo manuale e la configurazione mostrata sopra.

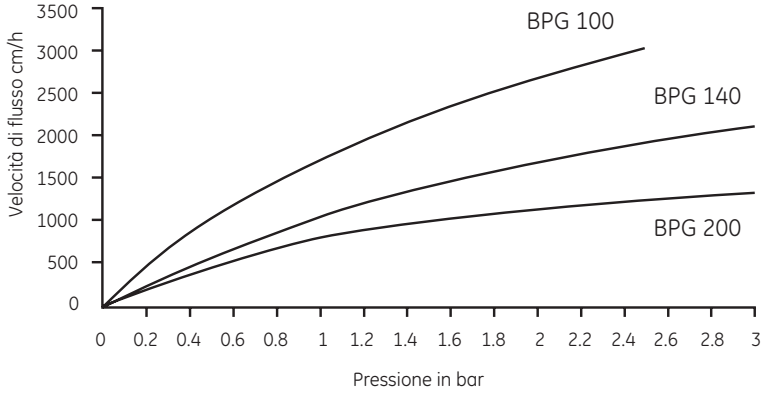


**Fig 3-2.** Esempi di diagrammi pressione/velocità di flusso di colonne BPG 100, 140 e 200 vuote.

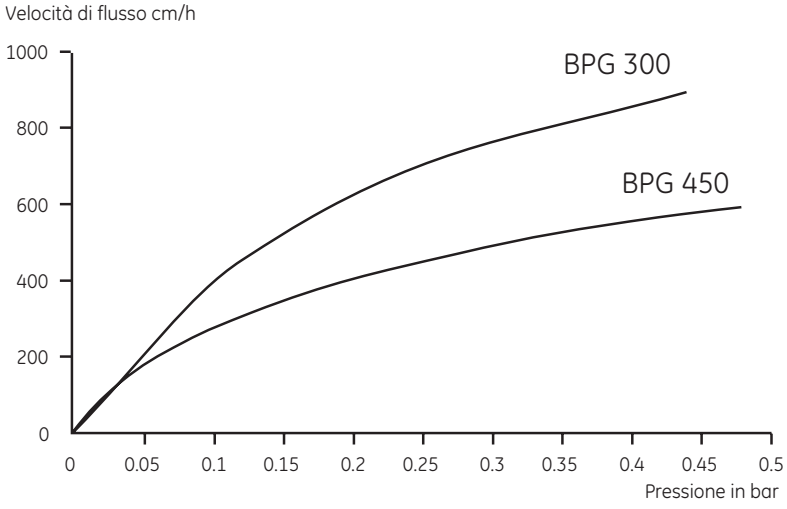


**Fig 3-3.** Diagrammi pressione/velocità di flusso di colonne BPG 300 e 450 vuote.

### 3.4.2 Diagrammi pressione/velocità di flusso per colonne impaccate

Le Figure 3-4/3-6 illustrano i diagrammi pressione/velocità di flusso delle colonne BPG impaccate ottenute usando il metodo fornito nella sezione 5.1.5 di questo manuale e l'impostazione mostrata in Figura 3-1.

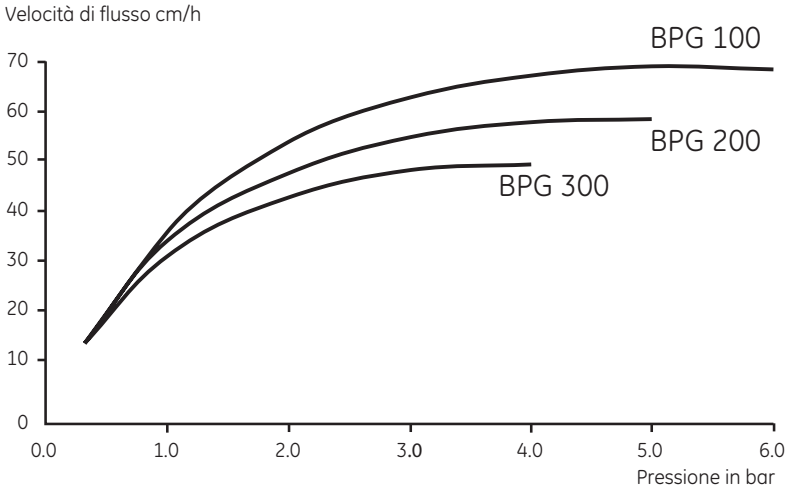


**Fig 3-4.** Diagramma pressione/velocità di flusso per preparazioni Superdex 200 prep grade in colonne BPG. Altezza del letto 60 cm.

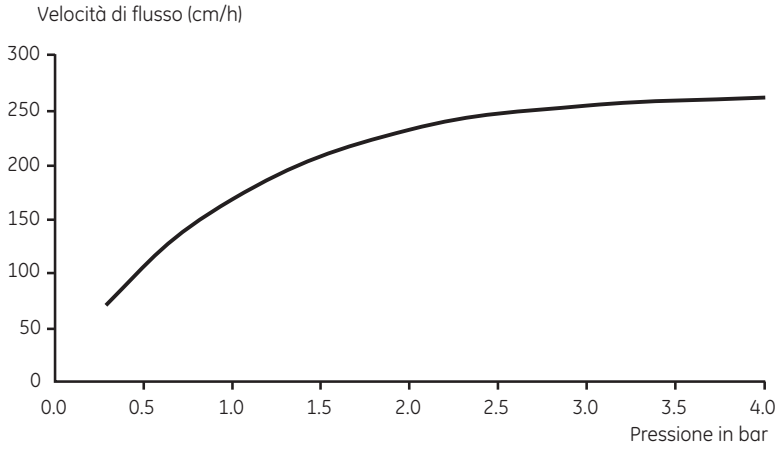


**Fig 3-5.** Diagramma pressione/velocità di flusso per Q Sepharose High Performance su colonne BPG 300/500. Altezza letto 10 cm.

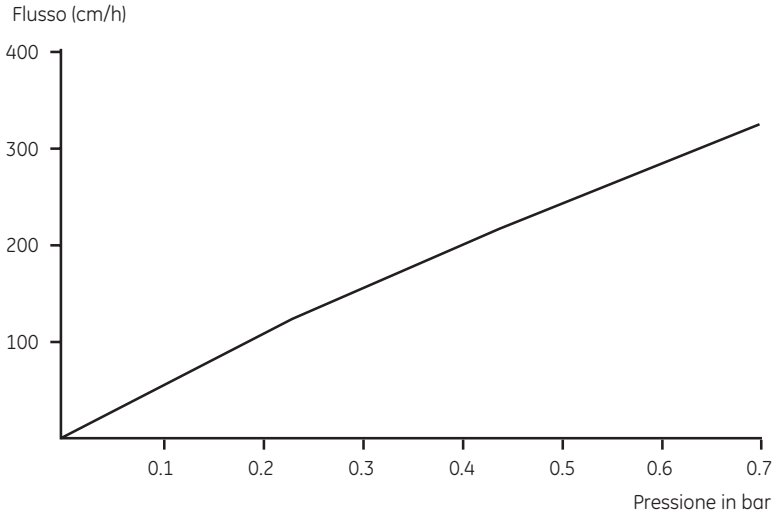


**Fig 3-6.** Diagramma pressione/velocità di flusso per una colonna BPG 450 impaccata con Q Sepharose Fast Flow ad un'altezza del letto di 15 cm.

# 4 Installazione e test di tenuta

Tutte le colonne BPG dispongono di raccordi sanitari a morsetto come connettori.

**ATTENZIONE!** Si possono usare solo manicotti e morsetti approvati per la massima pressione della colonna e resistenti alle sostanze chimiche previste.

**ATTENZIONE!** Installare la colonna lontano da aree di passaggio per evitare che venga spostata o urtata accidentalmente. Fare attenzione a non calpestare o inciampare su tubi flessibili posti sul pavimento.

## *4.1 Smontaggio e assemblaggio*

Smontare e assemblare le colonne e gli adattatori attenendosi alle istruzioni riportate nelle sezioni seguenti. Per l'identificazione delle parti fare riferimento alle Tabelle A1 – A3 e alle figure A1 – A5 (tabelle e figure si trovano nella parte finale di questo manuale). I numeri riportati tra parentesi () delle sezioni seguenti fanno riferimento a numeri che identificano i componenti come indicato nelle figure e nelle tabelle che si trovano in fondo al presente manuale.

**AVVERTENZA!** Dopo l'assemblaggio della colonna, verificare che la colonna sia ben serrata e che non vi siano perdite.

### 4.1.1 BPG 100, 140 e 200

**Assemblaggio**

Per smontare le colonne BPG 100, 140 e 200, fare riferimento alla Tabella A-1 e alle Figure A-1 e A-2 sul retro di questo manuale e procedere nel seguente modo:

1 Togliere i dadi (18) e le rondelle (14) che fissano l'adattatore alla flangia (10).

**AVVERTENZA!** Se l'O-ring di tenuta dell'adattatore è secco, potrebbe danneggiarsi in caso di un movimento forzato dell'adattatore. Inumidire l'O-ring con acqua o soluzione di etanolo al 20%. NON mettere grasso l'O-ring.

2 Svitare la manopola di regolazione (17) in modo da allentare l'O-ring di tenuta dell'adattatore (28/29) e rimuovere l'adattatore.

3 Usando una chiave a tubo, e nella sequenza mostrata in Figura 4-1, togliere tutti i dadi (8) e le rondelle (9) che fissano le aste di supporto (2) sulla flangia (10).

**AVVERTENZA!** Non allentare completamente il dado in solo un movimento. Allentare i dadi gradualmente nella sequenza come da Figura 4-1. Tre-quattro giri per dado sono sufficienti per allentare e togliere i dadi in modo corretto. Usare una chiave a falce sulle aree piatte dell'asta per evitare che le aste si svitino.

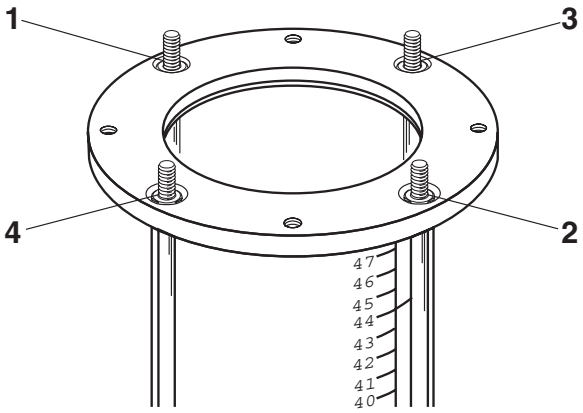


**Fig 4-1.** Sequenza di rimozione e di serraggio dei dadi.

**AVVERTENZA!** Quando la flangia viene rimossa, il tubo della colonna non è più sostenuto. Fare attenzione affinché il tubo della colonna non si rovesci.

4 Togliere la flangia (10) prestando particolare attenzione.

5 Usando una chiave regolabile, svitare le aste di supporto (2) dall'estremità inferiore della colonna (12).

6 Sollevare il tubo di vetro (1). Riporre con cura il tubo di vetro su una superficie sicura. Se l'O-ring è rimasto attaccato al tubo di vetro o all'estremità, inumidire l'O-ring con etanolo al 20% e toglierlo.

7 Con una chiave, togliere i bulloni (13) e le rondelle (14) che fissano l'estremità (12) al supporto (15). Separare l'estremità dal supporto.

***Assemblaggio***

Per assemblare le colonne BPG 100, 140 e 200, fare riferimento alla Tabella A-1 e alla Figura A-2 sul retro di questo manuale. Procedere nel seguente modo:

***Nota:*** *Inumidire il net con etanolo al 20% per eliminare l'aria intrappolata.*

1 Facendo riferimento alla Figura 4-2 qui di seguito, assicurare che le seguenti voci siano posizionate correttamente sull'estremità inferiore (12):

- Support net (5)
- Filter net (4)
- anello guida in PTFE (3)
- O-ring (6/7)

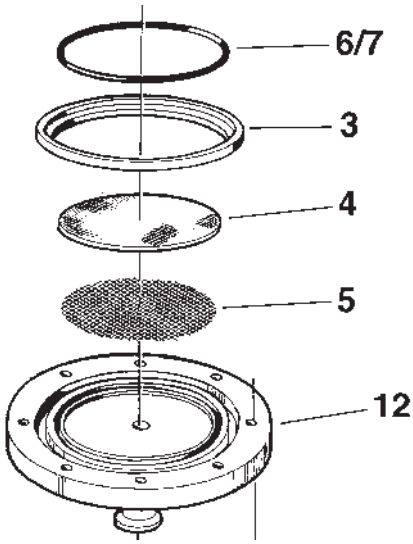


**Fig 4-2.** Posizione dei componenti sull'estremità inferiore sulle colonne BPG 100, 140 e 200.

2 Fissare l'estremità inferiore (12) al supporto (15) con bulloni (13) e rondelle (14).

3 Con cura posizionare il tubo di vetro (1) sull'O-ring (6/7) sull'estremità inferiore(12). Assicurare che il tubo di vetro non sia in contatto con nessuna parte in acciaio inossidabile. Allineare il tubo con il filter net (4).

4 Avvitare le aste di supporto (2) sull'estremità (12).

5 Posizionare la flangia (10) in modo che le aste di supporto (2) entrino adeguatamente nei relativi fori. Verificare che l'O-ring (6/7) sulla flangia sia allineato con il tubo di vetro. Il tubo di vetro non deve essere in contatto con nessuna parte in acciaio inossidabile, in caso contrario il tubo di vetro potrebbe rompersi.

6 Allineare la superficie interna del tubo di vetro con la superficie interna della flangia.

7 Montare le rondelle (9) ed i dadi (8) sulle aste di supporto (2) e serrarle a mano.

8 Impostare la chiave tensiometrica sulle specifiche come dalla seguente Tabella 4-1 e serrare i dadi (8) e le rondelle (9) che fissano le aste di supporto (2) sulla flangia (10). Attenersi alla sequenza illustrata in Figura 4-1 (cioè stringere i dadi con sequenza diametralmente opposta).

**AVVERTENZA!** Il tubo di vetro si romperà se viene esercitata troppa forza nel serraggio dei quattro dadi sulle aste di supporto, cioè le aste che fissano la flangia e l'estremità inferiore alla colonna di vetro. Usare sempre la chiave tensiometrica quando si serrano questi dadi.

**Tabella 4-1.** Impostazioni della chiave tensiometrica delle colonne BPG 100, 140 e 200.

| | Colonna BPG | | |
|---|---|---|---|
| | **100** | **140** | **200** |
| Momento (Nm) | 4 | 5 | 5 |

9 La colonna ora è pronta per l'uso e si potrà inserire l'adattatore.

***Smontaggio dell'adattatore***

Per smontare l'adattatore sulle colonne BPG 100, 140 e 200 , fare riferimento alla Tabella A-1 e alla Figura A-1 e procedere nel seguente modo:

1 Togliere il filter net (36) piegandolo prestando particolare attenzione. Togliere il support net (35). Fare attenzione a non graffiare l'adattatore in quanto ciò potrebbe causare delle perdite.

2 Togliere lo stopper (25) dalla piastra superiore (21) togliendo i bulloni (24).

3 Rilasciare la sealing unit (27) ed il tubo interno dell'adattatore (30) svitando i bulloni (26) posti sull'anello superiore della sealing unit.

4 Rimuovere la manopola di regolazione (17) prestando attenzione. Ciò consente di liberare la tensione sulla molla (33) situata sotto al tubo interno dell'adattatore (30).

5 Rimuovere il top-plate assembly (19–23) e separarlo dall'adattatore esterno (31) girandolo in senso orario.

6 Togliere la sealing unit (27) e l'O-ring dell'adattatore (28/29).

7 Dopo aver tolto le viti (32) togliere il tubo esterno dell'adattatore (31), il tubo interno dell'adattatore (30) e la molla (33).

8 Il top-plate assembly (19–23) può essere smontato togliendo le viti (23).

Con ciò viene completata la procedura di smontaggio dell'adattatore.

**Assemblaggio dell'adattatore**

Per assemblare l'adattatore sulle colonne BPG 100, 140 e 200, fare riferimento alla Figura A-1 (e alla Tabella 4-1 per le impostazioni della chiave tensiometrica) e procedere nel seguente modo:

1 Posizionare l'anello (20) nell'apposito alloggiamento della piastra superiore (21).

2 Usando le viti (23) fissare l'inserto dell'adjuster nut (22) sul corpo dell'adjuster nut (19) attraverso la piastra superiore (21) in modo che il corpo dell'adjuster nut giri sull'anello (20).

3 Fare entrare la molla (33), il tubo interno dell'adattatore (30) ed il tubo esterno dell'adattatore (31) sulla piastra dell'adattatore (34).

4 Serrare il tubo esterno dell'adattatore (31) sulla piastra dell'adattatore (34) usando le viti (32).

5 Fare entrare la sealing unit (27) sul tubo dell'adattatore (31).

6 In senso antiorario, avvitare il top-plate assembly (19–23) per 5 cm sul tubo esterno dell'adattatore (31).

7 Girare la manopola di regolazione (17) in senso orario sulla parte superiore dell'adattatore fino a quando i fori nel tubo di regolazione interno (30) sono a livello con i fori del tubo esterno dell'adattatore (31).

8 Serrare con le dita le viti (26) nella metà superiore della sealing unit (27), verificando che siano a livello e che siano allineate correttamente con i fori, fino a quando sono ancora visibili 1–2 mm di filettatura della vite. Infine, serrare le viti con una chiave a settore.

9 Montare lo stopper (25) sulla piastra (21) con le viti (24).

10 Montare l'O-ring (28/29) sulla piastra dell'adattatore (34).

11 Inumidire il filter net (36) con etanolo al 20%. Montare il support net (35) e il filter net (36) sulla piastra dell'adattatore (34). Potrebbe essere di aiuto riscaldare il filter net in acqua per facilitarne il montaggio sull'adattatore.

Con ciò viene completata la procedura di assemblaggio dell'adattatore.

***Montaggio dell'estensione (estensione di impaccaggio)***

L'estensione è già montata alla consegna. Lo smontaggio/assemblaggio dell'estensione viene eseguito allo stesso modo della colonna, con l'eccezione delle indicazioni per il supporto.

Per montare un'estensione sulle colonne BPG 100, 140 e 200 procedere nel seguente modo:

1 Togliere l'adattatore dalla colonna e posizionare l'estensione sulla flangia superiore (10) in modo che le aste della colonna entrino nei foris presenti sulla flangia (Figura 4-3, qui sotto) sull'estensione. Verificare che l'O-ring sia posizionato correttamente sulla flangia.

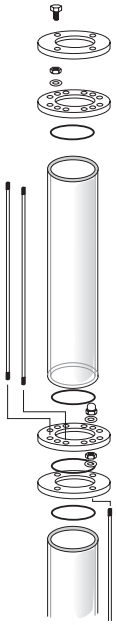

**Fig 4-3.** Posizione dei componenti del estensione di impaccaggio.

2 Usare le rondelle e i dadi a cupola del coperchio della colonna (adattatore) per fissare l'estensione alla colonna.

La colonna con l'estensione ora è pronta per la prima delle due fasi previste per la procedura di impaccaggio. I bulloni e le rondelle fornite con l'estensione vengono usati per fissare l'adattatore sull'estensione stessa.

***Nota:*** *Non impaccare la colonna con altezze di letto superiori alla lunghezza della colonna, ovvero l'adattatore deve fare tenuta contro la parete della colonna e NON contro la parete del tubo di estensione. Una volta rimossa l'estensione per l'impaccaggio, sono necessari almeno 10 cm di altezza del tubo cromatografico per installare l'adattatore.*

### 4.1.2 BPG 300

***Assemblaggio***

Per smontare le colonne BPG 300, fare riferimento alla Tabella A-2 e alle Figure A-3 e A-4 sul retro di questo manuale e procedere nel seguente modo:

1 Allentare uno dei dadi (4) sul morsetto della piastra superiore (1) che fissa l'insieme dell'adattatore sulla flangia (5) e togliere il morsetto.

**AVVERTENZA!** Se la guarnizione dell'O-ring dell'adattatore è secca, potrebbe venir danneggiata da un movimento forzato dell'adattatore. Inumidire l'O-ring con acqua o soluzione di etanolo al 20%. NON oleare l'O-ring.

2 Svitare il seal adjuster (23) di un numero di giri sufficiente ad allentare la tenuta dell'O-ring dell'adattatore (33/34). Togliere l'adattatore senza far toccare il vetro con l'acciaio inossidabile.

3 Usando una chiave, e nella sequenza mostrata in Figura 4-4, togliere i dadi (2) e le rondelle (3) che fissano le aste di supporto (8) sulla flangia (5).

**ATTENZIONE!** Non allentare completamente il dado in solo un movimento. Allentare i dadi gradualmente nella sequenza come da Figura 4-4. Tre-quattro giri per dado sono sufficienti per allentare e togliere i dadi in modo corretto. Usare una chiave regolabile sulle aree piatte dell'asta per evitare che le aste si svitino.

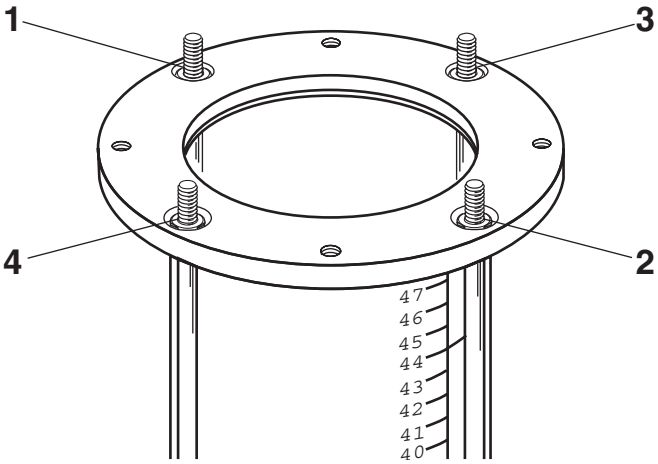


**Fig 4-4.** Sequenza di rimozione e di serraggio dei dadi.

**ATTENZIONE!** Quando la flangia viene rimossa, il tubo della colonna non è più sostenuto. Fare attenzione affinché il tubo della colonna non si rovesci/perda l'equilibrio.

4 Togliere la flangia facendo attenzione (5).

5 Usando una chiave regolabile, svitare le aste di supporto (8) dall'estremità (14).

6 Sollevare il tubo di vetro (9). Riporre con cura il tubo di vetro su una superficie sicura. Se l'O-ring è rimasto attaccato al tubo di vetro o all'estremità inferiore, inumidire l'O-ring con etanolo al 20% e toglierlo.

7 Con una chiave a settore, togliere i bulloni (21) e le rondelle (20) che fissano l'estremità (14) al supporto (19). Separare l'estremità dal supporto.

***Assemblaggio***

Per assemblare una colonna BPG 300, fare riferimento alla Figura A-4 e procedere nel seguente modo:

***Nota:*** *Inumidire il net con etanolo al 20% per eliminare l'aria intrappolata.*

1 Facendo riferimento alla Figura 4.2 qui di seguito, assicurare che i seguenti componenti siano posizionati correttamente sull'estremità inferiore (14):

- Piastra di distribuzione (13; il lato profilato deve essere rivolto verso l'estremità inferiore e il lato piatto deve essere rivolto verso il support net).
- Support net (12)
- Net (10/11)
- O-ring (6/7).

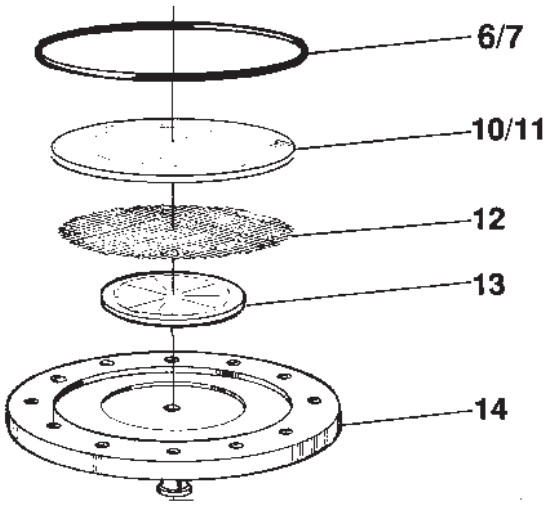


**Fig 4-5.** Posizione dei componenti dell'estremità inferiore per le colonne BPG 300.

2 Fissare l'estremità inferiore (14) al supporto (19) con bulloni (21) e rondelle (20).

3 Prestando attenzione posizionare il tubo di vetro (9) sull'O-ring (6/7) nell'estremità (14). Verificare che il tubo di vetro non sia in contatto con nessuna parte in acciaio inossidabile. Allineare il tubo di vetro con il filter net del fondo (10/11).

4 Avvitare le aste di supporto (8) sull'estremità (14).

5 Posizionare la flangia (5) in modo che le aste di supporto (8) entrino adeguatamente nei relativi fori. Verificare che l'O-ring (6/7) sulla flangia sia allineato con il tubo di vetro. Il tubo di vetro non deve essere in contatto con nessuna parte in acciaio inossidabile, in caso contrario il tubo di vetro potrebbe rompersi.

6 Allineare la superficie interna del tubo di vetro con la superficie interna della flangia.

**AVVERTENZA!** Il tubo di vetro si romperà se viene esercitata troppa forza nel serraggio dei quattro dadi sulle aste di supporto, cioè le aste che fissano la flangia e l'estremità alla colonna di vetro. Usare sempre la chiave tensiometrica quando si serrano questi dadi. Fare riferimento alla Tabella 4-2 per le impostazioni tensiometriche.

7 Montare le rondelle (3) ed i dadi (2) sulle aste di supporto (8) e serrarle con le dita.

8 Impostare la chiave tensiometrica in base ai valori della seguente Tabella 4-2 e stringere i dadi (2) nella seuqenza illustrata in Figura 4-4. Stringere i dadi gradualmente per evitare una pressione non omogenea sul tubo di vetro. Si consigliano 3–4 giri per dado.

**Tabella 4-2.** Impostazioni della chiave tensiometrica delle colonne BPG 300.

| Parte (Fare riferimento alla Figura A-4 per la posizione) | Impostazioni della chiave tensiometrica |
|---|---|
| Dadi dell'asta (2) | 6 Nm |
| Dadi del morsetto della piastra superiore (4) | 6,5 Nm |

La colonna ora è pronta per l'uso e si potrà inserire l'adattatore.

***Smontaggio dell'adattatore***

Per smontare l'adattatore di una colonna BPG 300, fare riferimento alla Figura A-3 e procedere nel seguente modo:

1 Individuare la piccola apertura sulla base dell'anello del net di filtro. Togliere il net di filtro (41/42) inserendo una spatola o una lama in acciaio inox nell'apertura. Togliere il support net (40).
2 Togliere la vite di fermo (28) ed il dado di fissaggio (27) dalla piastra superiore (26).
3 Rilasciare la sealing unit (30) ed il tubo interno dell'adattatore (35) svitando i bulloni (31) sull'anello superiore della sealing unit.
4 Togliere delicatamente il seal adjuster (23) liberando così la tensione sulla molla (38) situata sotto al tubo interno dell'adattatore (35).
5 Togliere il top-plate assembly (24–26, 29 e 32) e separarlo dall'adattatore esterno (36) girandolo in senso orario.
6 Togliere la sealing unit (30) e l'O-ring dell'adattatore (33/34).
7 Dopo aver tolto le viti (37) togliere il tubo esterno dell'adattatore (36), il tubo interno dell'adattatore (35) e la molla (38) dalla piastra dell'adattatore (39).
8 Il top-plate assembly (24–26, 29 e 32) può essere smontato togliendo le viti (32).

Con ciò viene completata la procedura di smontaggio dell'adattatore.

***Assemblaggio dell'adattatore***

Per assemblare l'adattatore di una colonna BPG 300, fare riferimento alla Figura A-3 e procedere nel seguente modo:

1 Posizionare l'anello (25) nella piastra superiore (26).
2 Usando le viti (32) fissare l'adjuster nut (29) sul corpo del regolatore di altezza dell'adattatore (24) attraverso la piastra superiore (26) in modo che il corpo del regolatore di altezza dell'adattatore ruoti sugli anelli (25).
3 Fare entrare la molla (38), il tubo interno dell'adattatore (35) ed il tubo esterno dell'adattatore (36) sulla piastra dell'adattatore (39).
4 Serrare il tubo esterno dell'adattatore (36) sulla piastra dell'adattatore (39) usando le viti (37).
5 Fare entrare la sealing unit (30) sul tubo esterno dell'adattatore (36).

6 Ruotando in senso antiorario, avvitare il top-plate assembly (24–26, 29 e 32) per ca. 5 cm all'interno del tubo esterno dell'adattatore (36).

7 Girare il seal adjuster (23) in senso orario sulla parte superiore dell'adattatore fino a quando i fori nel tubo di regolazione interno (35) sono in linea con i fori del tubo esterno dell'adattatore (36).

8 Serrare con le dita le viti (31) nella metà superiore della sealing unit (30), verificando che siano a livello e che siano allineate correttamente con i fori, fino a quando sono ancora visibili 1–2 mm di filettatura della vite. Infine, serrare le viti con una chiave a settore.

9 Individuare la vite di fermo (28) ed il dado di fissaggio (27) sulla piastra superiore (26). Girare la vite di fermo fino a quando entra nella scanalatura del tubo esterno dell'adattatore (36), impedendo così il movimento laterale del tubo, senza pregiudicarne il movimento verticale. Bloccare la vite di fermo (28) in posizione con il dado di fissaggio (27).

10 Montare l'O-ring dell'adattatore (33/34) sulla piastra dell'adattatore (39).

11 Inumidire il net di filtro (41/42) con etanolo al 20% e togliere tutte le bollicine d'aria intrappolate nel net di filtro. Se il net di filtro è troppo rigido, riscaldarlo in acqua calda a 40°C.

12 Montare la piastra di distribuzione (13), il support net (40) e il filter net (41/42) sulla piastra dell'adattatore (39).

Con ciò viene completata la procedura di assemblaggio dell'adattatore della colonna BPG 300.

***Montaggio dell'estensione (estensione di impaccaggio)***

L'estensione è già montata alla consegna. Lo smontaggio/assemblaggio dell'estensione viene eseguito allo stesso modo della colonna, con l'eccezione delle indicazioni per il supporto.

Per assemblare un'estensione di una colonna BPG 300, fare riferimento alla Figura A-4 e procedere nel seguente modo:

1 Togliere l'adattatore dalla colonna e posizionare l'estensione sulla flangia superiore (5). Verificare che l'O-ring sia posizionato correttamente sulla flangia.

2 Usare il morsetto della piastra superiore per serrare l'estensione sulla colonna.

La colonna con l'estensione ora è pronta per la prima delle due fasi previste per la procedura di impaccaggio. Il morsetto fornito con l'estensione viene usato per fissare l'adattatore sull'estensione stessa.

***Nota:*** *Non impaccare la colonna su altezze di letto superiori alla lunghezza della colonna, ovvero l'adattatore deve fare a tenuta contro la parete della colonna e NON contro la parete del tubo di estensione. Una volta rimossa l'estensione per l'impaccaggio, sono necessari almeno 10 cm di altezza del tubo cromatografico per installare l'adattatore.*

### 4.1.3 BPG 450

***Assemblaggio***

Per smontare le colonne BPG 450, fare riferimento alla Tabella A-3 e alla Figura A-5 sul retro di questo manuale e procedere nel seguente modo:

1 Allentare la sealing unit dell'adattatore girando la maniglia (24).

**AVVERTENZA!** Se la guarnizione dell'O-ring dell'adattatore è secco, potrebbe danneggiarsi in caso di movimento forzato dell'adattatore. Inumidire l'O-ring con acqua o soluzione di etanolo al 20%. NON mettere grasso sull'O-ring.

2 Abbassare l'adattatore di alcuni millimetri per allontanare l'O-ring dalla parete di vetro. Quindi rialzarlo fino a dove possibile.

3 Togliere bulloni (26) e rondelle (27). Allentare il coperchio (17) e sollevare l'adattatore.

***Nota:*** *L'adattatore delle colonne BPG 450 è pesante. Per motivi di sicurezza, si raccomanda di sollevare l'adattatore con un argano da soffitto attaccato ai bulloni ad occhiello posti sul coperchio della colonna.*

4 Allentare i bulloni (44) per separare il tubo della colonna (12) [incluse le flange (3)] dall'estrenità (1). Sollevare con cura il tubo della colonna. Se l'O-ring è rimasto attaccato al tubo di vetro o all'estremità, inumidire l'O-ring con etanolo al 20% e toglierlo.

5 Per sostituire gli O-ring della flangia superiore e inferiore, allentare le viti (7) e sollevare con cura la flangia superiore. Togliere il tubo di vetro e sostituire l'O-ring del fondo. Rimettere al suo posto il tubo di vetro ed inserire il nuovo O-ring superiore. Infine, posizionare la flangia superiore. Fare attenzione ad allineare con cura il tubo di vetro con le flangie.

Con ciò viene completata la procedura di smontaggio dell'adattatore.

***Assemblaggio della colonna***

Per assemblare una colonna BPG 450, fare riferimento alla Figura A-5 a alla Tabella A-3 e procedere nel seguente modo:

1 Facendo riferimento alla Figura 4-6 qui di seguito, assicurare che i seguenti componenti siano posizionati correttamente sull'estremità inferiore:

- Piastra di distribuzione (41)
- Snap plug (36)
- Support net (2)
- Net di filtro (5)
- Guarnizione a U (4, montata sul net di filtro)

***Nota:*** *Inumidire il filtro con etanolo al 20% per eliminare l'aria intrappolata.*

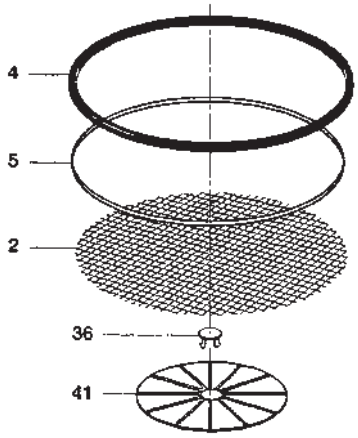


**Fig 4-6.** Posizione dei componenti dell'estremità inferiore per le colonne BPG 450.

2 Con cura posizionare il tubo della colonna (12) sulla guarnizione ad U (4). Controllare che la flangia (3) sia centrata sulla guarnizione ad U.

3 Fissare il tubo sull'estremità inferiore con i bulloni (44). Serrare i bulloni in sequenza trasversale con la chiave tensiometrica impostata su 8 Nm. Ogni bullone va serrato tre volte.

**AVVERTENZA!** Il tubo della colonna si rompe se viene esercitata troppa pressione serrando i bulloni che fissano la flangia (3) e le aste (8) al tubo della colonna. Usare sempre la chiave tensiometrica impostata su 4 Nm quando si serrano questi bulloni. Consultare la seguente Tabella 4-3 per le impostazioni della chiave tensiometrica sulla colonna BPG 450.

**Tabella 4-3.** Impostazioni della chiave tensiometrica delle colonne BPG 450.

| Componente (Fare riferimento alla Figura A-5 per la posizione) | Impostazioni della chiave tensiometrica |
|---|---|
| Bulloni del coperchio e dell'estremità inferiore (26 e 27) | 8 Nm |
| Tubo di vetro con flangie (3) e aste (8). | 4 Nm |

***Smontaggio dell'adattatore [per sostituire l'O-ring (32)]***

Per sostituire l'O-ring sulle colonne BPG-450, fare riferimento alla Tabella A-3 e alla Figura A-5 e procedere nel seguente modo (vedi inoltre le impostazioni della chiave tensiometrica in Tabella 4-3):

1 Togliere i bulloni (39) dall'adattatore.

2 Togliere il coperchio (17) e la vite dell'adattatore (29). Fare attenzione a non piegare il tubo di ingresso (31).

3 Togliere la molla (34).

4 Togliere le viti (33) che fissano il tubo d'ingresso.

5 Togliere il vecchio O-ring (32) e gettarlo.

Con ciò viene completata la procedura di smontaggio dell'adattatore.

***Assemblaggio dell'adattatore***

1 Posizionare il nuovo O-ring (32) lubrificato (con etanolo al 20%) fra il tubo d'ingresso (31) e l'adattatore (38). Serrare le viti (33).

2 Inserire la molla (34) sul tubo d'ingresso.

3 Abbassare con cura la vite dell'adattatore (29) ed il coperchio (17) sul tubo d'ingresso.

4 Avvitare i bulloni (39) nell'adattatore e serrarli.

L'adattatore è ora montato.

***Montaggio dell'estensione (estensione di impaccaggio)***

Il dispositivo per l'impaccaggio per il BPG 450 è un'estensione in acciaio inossidabile.

Per montare l'estensione su una colonna BPG 450, procedere nel seguente modo:

1 Togliere l'adattatore dalla colonna e posizionare l'estensione in acciaio inossidabile sulla flangia superiore. Verificare che l'O-ring sia posizionato correttamente sulla flangia.

2 Usare i bulloni in dotazione con l'estensione per fissare il tubo stesso alla colonna.

La colonna estesa ora è pronta per la prima delle due fasi prevista dalla procedura di impaccaggio.

***Nota:*** *Togliere l'estensione dopo la fase iniziale di sedimentazione. Inserire l'adattatopre e continuare con la procedura d'impaccaggio. Una volta rimossa l'estensione per l'impaccaggio, sono necessari almeno 15 cm. di altezza del tubo cromatografico per installare l'adattatore.*

## 4.2 Connessioni

Per collegare le colonne BPG con tubi e sistemi di vario tipo sono disponibili diversi connettori (fare riferimento al Capitolo 3 nella Guida alla Manutenzione delle Colonne BPG).

Le connessioni sanitarie di tipo tri-clamp delle BPG consentono di eseguire in modo efficace il cleaning in place. Altri connettori sono in polipropilene che presenta una elevata resistenza chimica. Il diametro esterno delle connessioni sanitarie per tutte le BPG è di 25 mm. Un morsetto da 51 mm viene usato con i kit del manometro e la valvola di sicurezza.

## 4.3 Messa a terra della colonna

Per evitare scariche di elettricità statica, la colonna può essere messa adeguatamente a terra.

***Nota:*** *Ciò deve essere fatto se l'attrezzatura verrà utilizzata in atmosfere potenzialmente deflagranti.*

A questo scopo, è disponibile come accessorio un adeguato kit per la messa a terra e il supporto della colonna è dotato di un terminale per la connessione alla messa a terra, come viene mostrato qui di seguito.

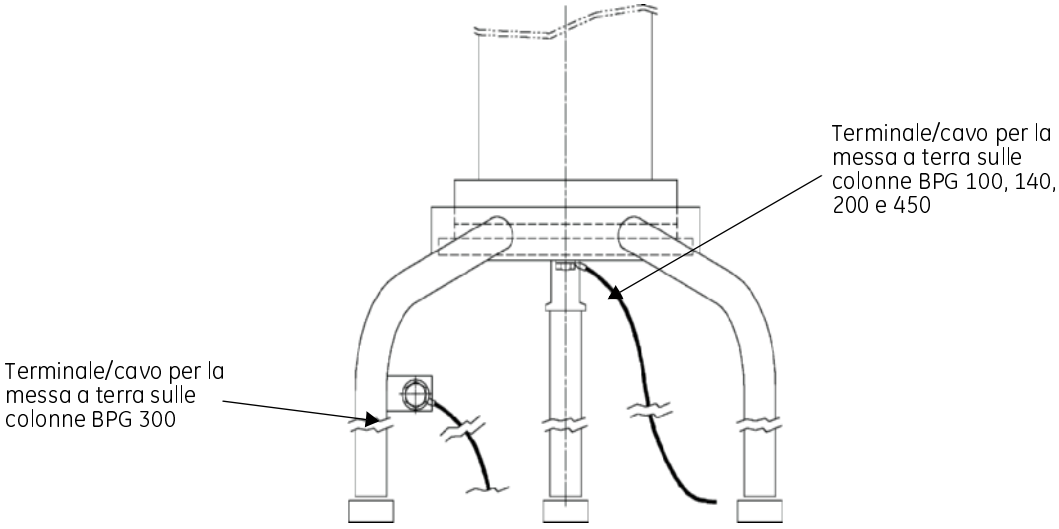
Terminale/cavo per la messa a terra sulle colonne BPG 100, 140, 200 e 450
Terminale/cavo per la messa a terra sulle colonne BPG 300

**Fig 4-7.** Terminale di connessione per la messa a terra sul supporto della colonna.

Per mettere a terra la colonna, collegare una estremità del cavo per la messa a terra su un terminale della rete per la messa a terra del laboratorio e l'altra estremità al terminale di messa a terra della colonna che si trova sul supporto della colonna. Il terminale di messa a terra della colonna ha una filettatura da M6.

## 4.4 *Test di tenuta*

Esecuzione del test di tenuta lungo l'adattatore:

1 Riempire la colonna con acqua o soluzione sanitizzante e posizionare l'adattatore alla medesima altezza a cui dovrà essere durante la separazione cromatografica.
2 Sigillare l'adattatore con il seal adjuster.
3 Rimuovere l'aria dalla colonna.
4 Chiudere la valvola di uscita della colonna.

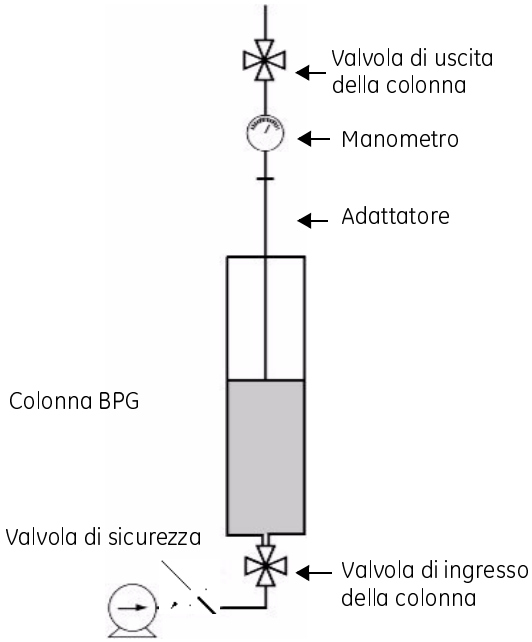


**Fig 4-8.** Presentazione schematica della colonna, delle valvole e della pompa per il test di tenuta.

1 Aumentare la pressione fino a raggiungere la massima pressione operativa.
2 Attendere circa 15 minuti fino a quando la pressione si è stabilizzata.
3 Controllare la caduta della pressione sul manometro. La caduta di pressione non deve superare 0,1 bar in 5 minuti. Un registratore collegato ad un misuratore di pressione permetterà di ottenere dati più precisi.

Con ciò viene completato il test di tenuta.

# 5 Funzionamento

**AVVERTENZA!** Manipolare la colonna con cura perchè le specifiche di pressione sono valide solo se il tubo di vetro non è danneggiato ed è privo di scalfiture. Non immettere mai aria o gas nella colonna.

***Nota:*** *Prima di procedere all'impaccaggio della colonna per la prima volta, lavare la colonna ed i tubi con soluzione CIP, ad es, con NaOH per assicurare che tutte le superfici siano pulite. Fare riferimento alla sezione 1.3 della Guida di Manutenzione della colonna BPG.*

Per ottenere prestazioni ottimali dalle colonne BPG, raccomandiamo di utilizzare il protocollo di impaccaggio descritto nel paragrafo sottostante. Prima di utilizzare la colonna si raccomanda di leggere l'intero capitolo.

## *5.1 Impaccaggio della colonna*

Vi sono vari metodi di impaccaggio da utilizzare in funzione della colonna e del tipo di fase stazionaria da impaccare. Per le colonne BPG si raccomanda il metodo di impaccaggio descritto nella sottosezione 5.1.5. La velocità di flusso ottimale di impaccaggio dipende dalla temperatura, dal tipo di fase stazionaria, lotto e quantità. Di conseguenza, per ogni singola combinazione, la velocità di flusso ottimale deve essere determinata empiricamente tracciando una diagramma pressione/velocità di flusso. I metodi consigliati sono descritti in dettaglio nelle sezioni 5.1.3 e 5.1.5.

### 5.1.1 Quantità di fase stazionaria per altezza di letto in cm

Le quantità di fase stazionaria richieste per cm di altezza di letto delle colonne BPG sono riportate qui di seguito.

**Tabella 5-1.** Quantità di fase stazionaria richiesta per le colonne BPG.

| Fase stazionaria | Quantità di fase stazionaria per litro di colonna impaccata | Quantità di fase stazionaria per centimetro di letto impaccato | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | BPG 100 | BPG 140 | BPG 200 | BPG 300 | BPG 450 |
| DEAE Sepharose Fast Flow | 1,25 l | 98 ml | 192 ml | 393 ml | 882 ml | 1,97 l |
| Sepharose Fast Flow | 1,25 l | 98 ml | 192 ml | 393 ml | 882 ml | 1,97 l |
| CM Sepharose Fast Flow | 1,25 l | 98 ml | 192 ml | 393 ml | 882 ml | 1,97 l |
| S Sepharose Fast Flow | 1,25 l | 98 ml | 192 ml | 393 ml | 882 ml | 1,97 l |
| Phenyl Sepharose Fast Flow | 1,25 l | 98 ml | 192 ml | 393 ml | 882 ml | 1,97 l |
| Sephadex G-25 C e M grades | 250 g | 19,6 g | 38,2 g | 78,5 g | 176 g | 394 g |
| Sephadex G-25 SF | 280 g | 22,0 g | 42,9 g | 88,0 g | 198 g | 443 g |
| Sepharose 4 e 6 Fast Flow | 1,20 l | 94 ml | 183 ml | 377 ml | 847 ml | 1,89 l |
| Sephacryl High Resolution | 1,25 l | 98 ml | 192 ml | 393 ml | 882 ml | 1,97 l |
| Superdex 75 e 200 prep grade | 1,20 l | 94 ml | 183 ml | 377 ml | 847 ml | 1,89 l |
| Q e SP Sepharose High Performance | 1,20 l | 94 ml | 183 ml | 377 ml | 847 ml | 1,89 l |
| Phenyl Sepharose High Performance | 1,20 l | 94 ml | 183 ml | 377 ml | 847 ml | 1,89 l |

### 5.1.2 Prorosità del net raccomandate

È importante selezionare il net dell'adattatore e della parte inferiore più idoneo. I net sono disponibili con porosità da 10, 12, 23 e 54 µm. Net dimensionati con porosità correttoa per la specifica applicazione possono comportare problemi di retropressione o perdite di fase stazionaria. Le porosità consigliate dei net sono le seguenti:

**Tabella 5-2.** Porosità dei net consigliate per le colonne BPG.

| Porosità dei net (µm) | Materiale | Dimensione delle particelle (µm) |
|---|---|---|
| 10 | PA[1] | < 70 |
| 12 | PEEK[2] | < 70 |
| 23 | PP[3] | FF-media |
| 54 | PP[3] | BB-media |

[1] Poliamide
[2] Polieteretere chetone

[3] Polipropilene

### 5.1.3 Determinazione della velocità di flusso di impaccaggio ottimale

Per stabilire la velocità di flusso ottimale di impaccaggio per le colonne BPG procedere nel seguente modo:

PUNTO 1

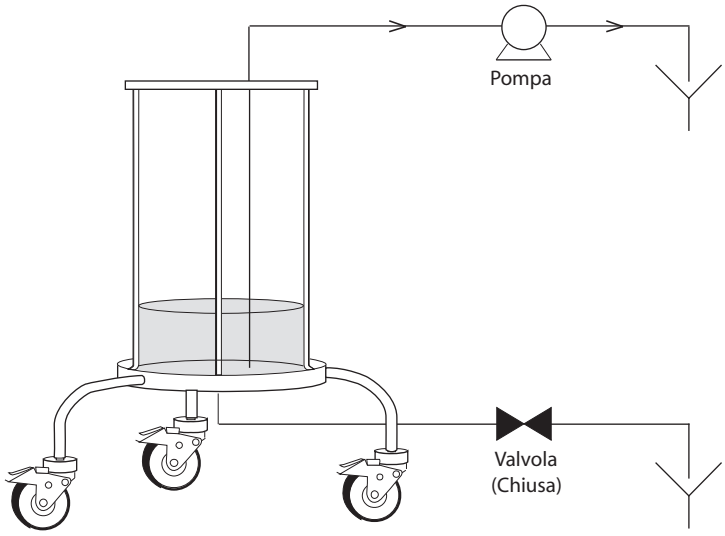


**Fig 5-1.** Determinazione della velocità di flusso ottimale, punto 1.

**AVVERTENZA!** Tenere sempre i liquidi pericolosi in contenitori chiusi per evitare evaporazione e versamenti nell'area di lavoro.

**PUNTO 1**

a. Inumidire con etanolo al 20% il net della colonna per eliminare l'aria intrappolata.
b. Riempire la colonna con 10–15 cm di tampone di impaccaggio.
c. Svuotare i tubi per eliminare tutte le bollicine d'aria.
d. Collegare un tubo al lato in aspirazione di una pompa.
e. Avviare la pompa, posizionare il tubo sul net della parte inferiore della colonna ed estrarre le eventuali bollicine d'aria rimaste intrappolate nel net.

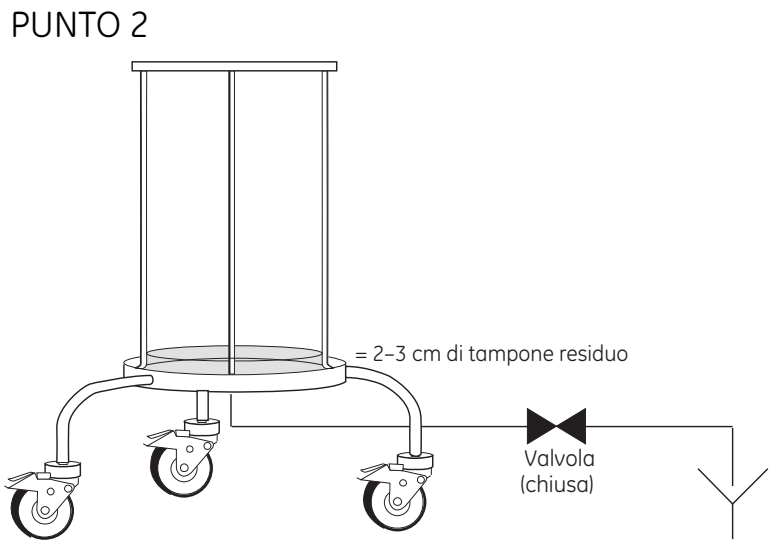


**Fig 5-2.** Determinazione della velocità di flusso ottimale, punto 2.

**PUNTO 2**

a. Proseguire a pompare tampone (ed aria) fino a quando nella colonna sono rimasti solo 2–3 cm di tampone.

b. Usare una livella per verificare che la colonna sia orizzontale. Se necessario regolare i piedini/le ruote.

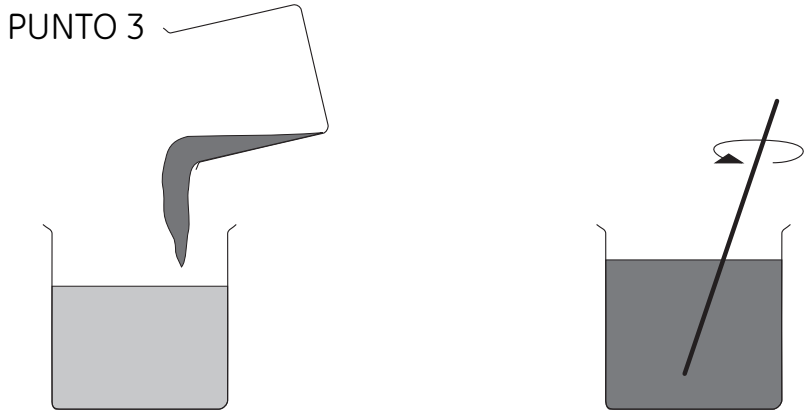


**Fig 5-3.** Determinazione della velocità di flusso ottimale, punto 3.

**PUNTO 3**

a. Miscelare il tampone di impaccaggio con la fase stazionaria in modo da ottenere uno slurry al 75%, cioè volume resina sedimentata/volume dello slurry = 0,75.

***Nota:*** *Questo volume di slurry è ottimale per le fasi stazionarie BioProcess Media. Per fasi stazionarie cromatografiche diverse rivolgersi al distri-butore per informazioni sul volume raccomandato della sospensione di resina.*

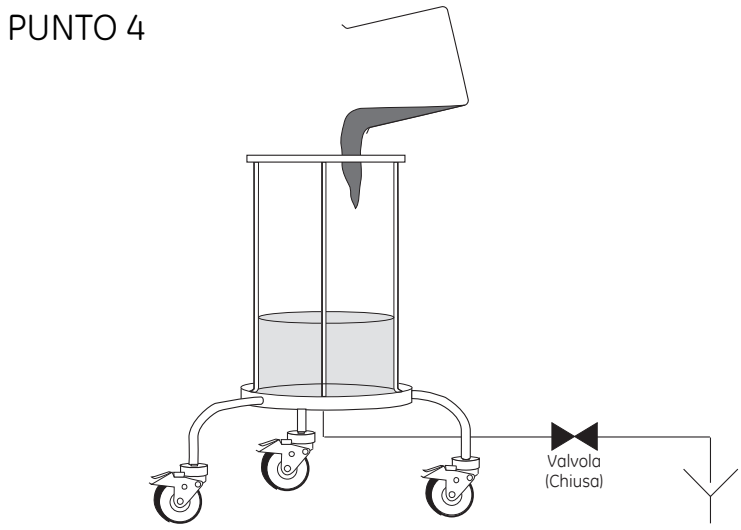


**Fig 5-4.** Determinazione della velocità di flusso ottimale, punto 4.

**PUNTO 4**

a. Versare prestando attenzione lo slurry ben omogeneo nella colonna. Controllare che non vi siano bollicine d'aria intrappolate nello slurry.

PUNTO 5

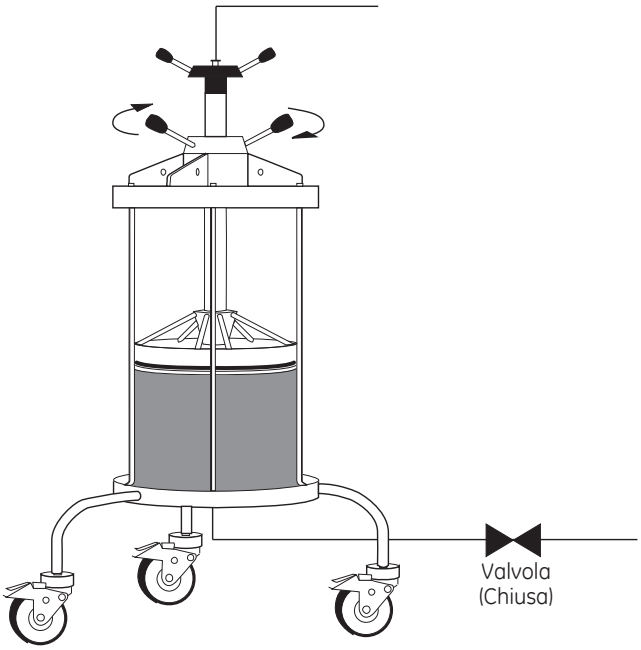


**Fig 5-5.** Determinazione della velocità di flusso ottimale, punto 5.

**PUNTO 5**

***Nota:*** *Questo punto va completato molto rapidamente in modo che la fase stazionaria non sedimenti completamente.*

a. Inserire l'adattatore.

b. Usare i quattro bulloni (BPG 100, 140 e 200) o il morsetto dell'adattatore superiore della piastra (BPG 300 e 450) per fissare l'adattatore sulla colonna.

c. Per posizionare l'adattatore 1–5 mm al di sotto della superficie superiore del liquido usare la manopola del regolatore di altezza.

PUNTO 6

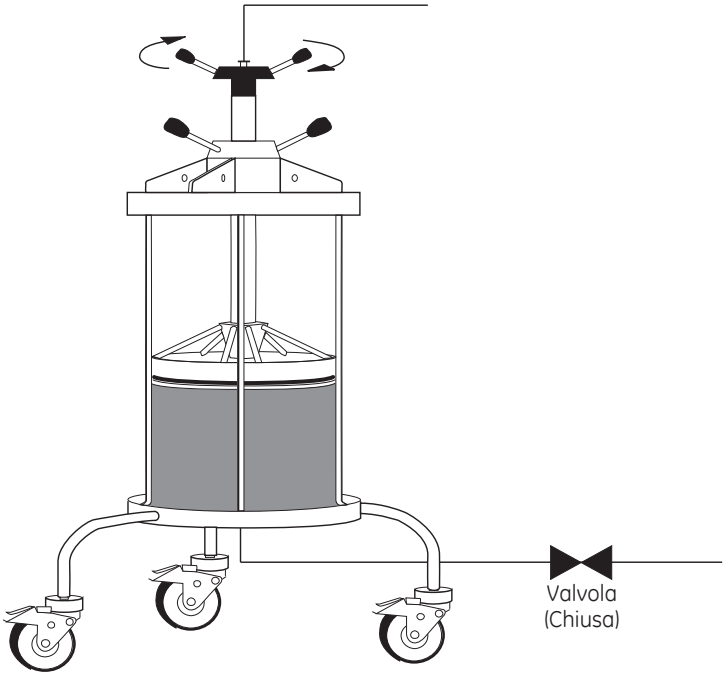


**Fig 5-6.** Determinazione della velocità di flusso ottimale, punto 6.

a. Sigillare l'O-ring dell'adattatore girando la manopola del regolatore di tenuta (BPG 100, 140 e 200), o la manopola (BPG 300 e 450) posta sulla parte superiore dell'adattatore in senso orario.

b. Con l'O-ring sigillato, abbassare l'adattatore, riempiendolo con tampone in modo da espellere ogni residuo d'aria presente all'interno del tubo dell'adattatore. Il tubo dell'adattatore è pieno quando il tampone crea un menisco e non compaiono ulteriori bollicine d'aria.

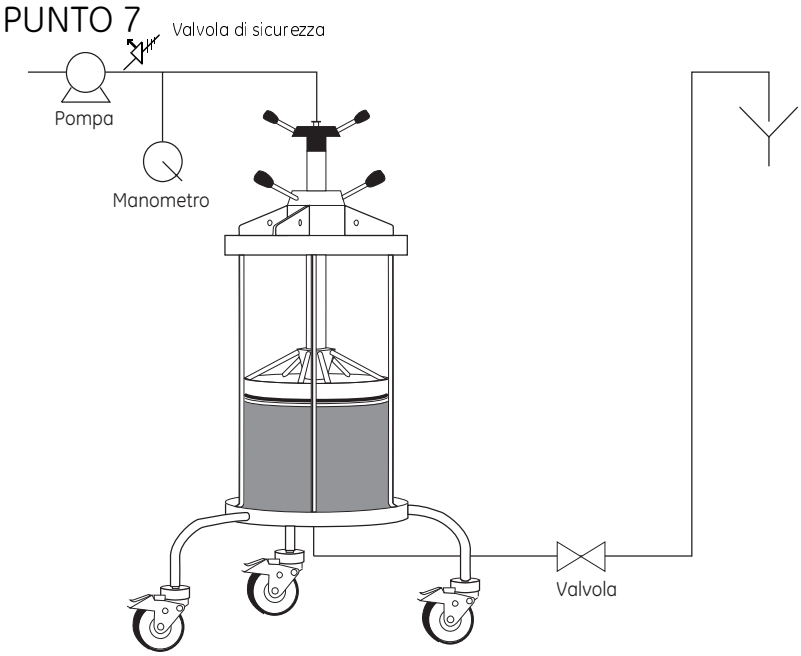


**Fig 5-7.** Determinazione della velocità di flusso ottimale, punto 7.

**PUNTO 7**

**AVVERTENZA!** Usare sempre una valvola di sicurezza collegata direttamente a valle della pompa.

a. Avviare la pompa e togliere l'aria nel tubo dalla pompa, pompando ad una bassa velocità di flusso.

b. Pompando ad una bassa velocità di flusso, collegare un manometro fra la pompa e la colonna e quindi collegare il tubo alla parte superiore della colonna.

c. Aprire la valvola inferiore.

d. Costruire un diagramma pressione/velocità di flusso iniziando con una velocità di flusso bassa. La fase stazionaria inizierà a depositarsi lasciando uno chiaro spazio fra il letto e l'adattatore. NON regolare l'adattatore.

e. Aumentare lentamente la pressione a piccoli intervalli; registrare la velocità di flusso quando la pressione si è stabilizzata. Il tempo necessario per stabilizzare la pressione dipende dal tipo di fase stazionaria e può variare da alcuni minuti ad alcune ore.

f. Continuare ad aumentare la pressione fino a quando viene raggiunto un plateau di velocità di flusso (un aumento di pressione non causa un corrispondente aumento della velocità di flusso). Per alcune fasi stazionarie di gel rigido non verrà raggiunto il plateau. In questi casi, usare la velocità di flusso alla pressione massima della colonna.

g. Quando la pressione massima è stata raggiunta, la determinazione si considera conclusa.

PUNTO 8

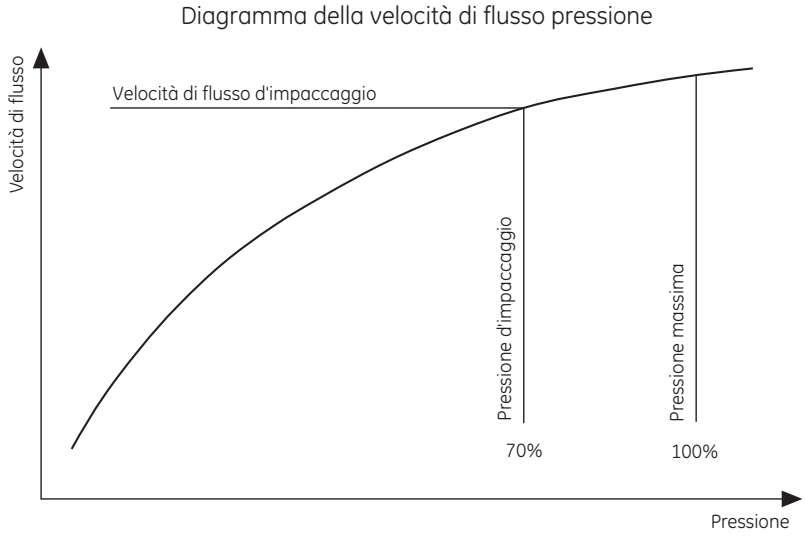


**Fig 5-8.** Determinazione della velocità di flusso ottimale, punto 8.

**PUNTO 8**

a. Costruire un diagramma della pressione rispetto alla velocità di flusso, come illustrato sopra. La velocità di fusso d'impaccaggio ottimale è tra il 70% ed il 100% della velocità di flusso massima. Per alcune fasi stazionarie molto rigide non vi sarà plateau; in questi casi usare la velocità di flusso alla pressione massima per la colonna.

### 5.1.4 Velocità di flusso raccomandate per le fasi stazionarie Amersham Biosciences

Le velocità di flusso d'impaccaggio raccomandate si trovano sulle istruzioni allegate alla confezione della fase stazionaria. Tuttavia, per un impaccaggio ottimale si raccomanda di eseguire la determinazione del diagramma pressione / velocità di flusso per ogni lotto di fase stazionaria, colonna o configurazione di sistema come descritto in 5.1.3.

### 5.1.5 Metodo di impaccaggio della colonna

Questo metodo d'impaccaggio può essere usato con i BioProcess Media ed è basato su una velocità di flusso costante applicata alla colonna. Per la preparazione della procedura d'impaccaggio, attenersi alla seguente procedura:

**AVVERTENZA!** Usare sempre una valvola di sicurezza collegata direttamente a valle della pompa.

PUNTO 1. Confermare che è stata definita la velocità di flusso ottimale relativa alla combinazione di attrezzatura, colonna, tipo e quantità di fase stazionaria (fare riferimento alla sezione 5.1.3).

PUNTO 2. Controllare che sia disponibile sufficiente tampone d'impaccaggio. Un tampone d'impaccaggio tipico è costitutito da NaCl 0,1 M. Tuttavia, controllare sempre le istruzioni della fase stazionaria per i tamponi d'impaccaggio.

PUNTO 3. Inumidire i net con etanolo al 20% per eliminare eventuale aria intrappolata nei net.

PUNTO 4. Regolare la velocità di flusso della pompa alla velocità di flusso d'impaccaggio, senza collegare la colonna alla pompa. Registrare la velocità della pompa per avviare l'impaccaggio alla velocità di flusso corretta.

PUNTO 5. Se la fase stazionaria è già nella colonna, sollevare l'adattatore, con cura miscelare la fase stazionaria e ripetere i punti 5 e 6 della sezione 5.1.3. Se la fase stazionaria non è nella colonna, ripetere i punti 1–6 della sezione 5.1.3.

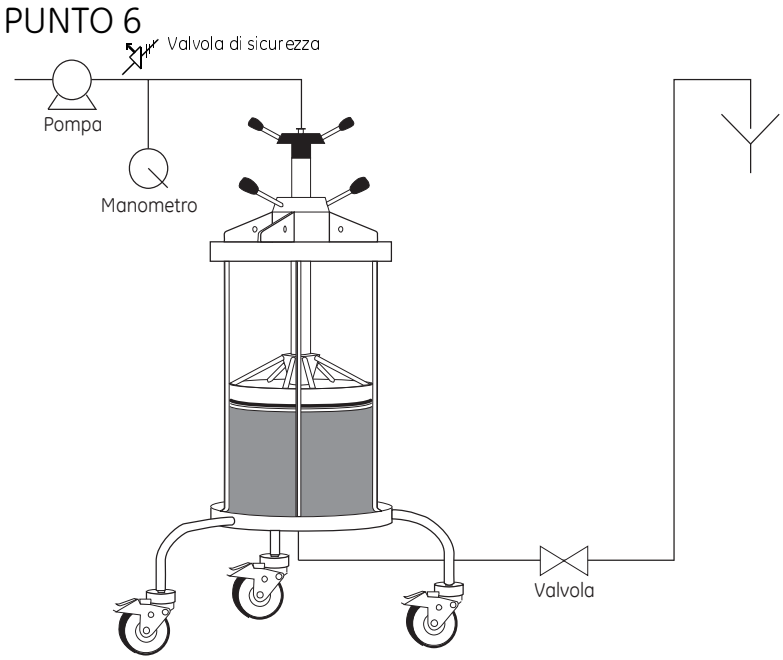


**Fig 5-9.** Metodo di impaccaggio della colonna, punto 6.

**PUNTO 6**

a. Avviare la pompa.
b. Togliere le bollicine d'aria nel tubo dalla pompa, pompando ad una bassa velocità di flusso.
c. Pompando ad una bassa velocità di flusso, collegare un manometro fra la pompa e la colonna e quindi collegare il tubo alla parte superiore della colonna.
d. Aprire la valvola inferiore.
e. Regolare la velocità di flusso alla velocità predefinita.
f. Misurare la velocità di flusso a intervalli regolari e regolarla se necessario. La contropressione generata dal letto di resina aumenterà e la velocità del flusso si ridurrà via via che la fase stazionaria si impacca.
g. Verificare che la pressione visualizzata sul manometro non superi la pressione massima della fase stazionaria (controllare il manuale utente della relativa fase stazionaria) o della colonna.

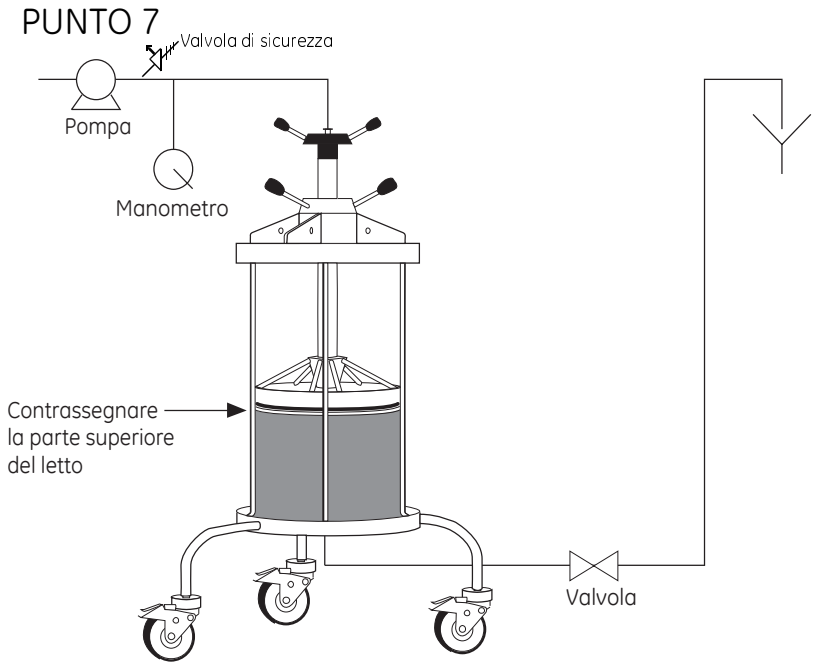


**Fig 5-10.** Metodo di impaccaggio della colonna, punto 7.

**PUNTO 7**

a. Quando il letto è stabile, marcare sul tubo della colonna il livello della parte superiore del letto.
b. Spegnere la pompa.
c. Chiudere la valvola inferiore.
d. Allentare la tenuta dell'O-ring dell'adattatore girando in senso antiorario la manopola del regolatore (BPG 100, 140 e 200), o la manopola del regolatore di tenuta (BPG 300 e 450) sulla parte superiore dell'adattatore.

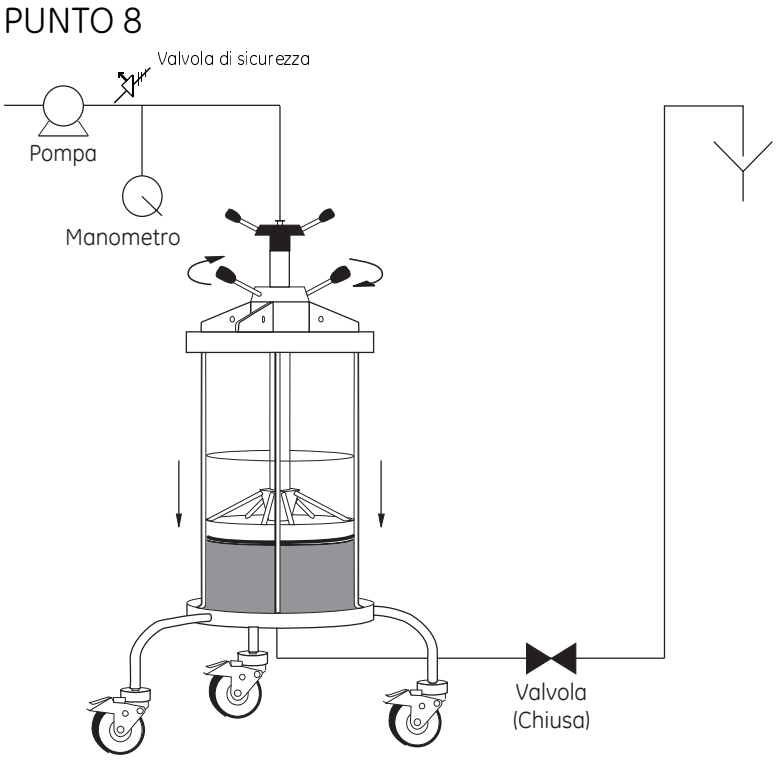


**Fig 5-11.** Metodo di impaccaggio della colonna, punto 8.

**PUNTO 8**

a. Abbassare rapidamente l'adattatore girando in senso orario la manopola del regolatore di altezza. Il tampone fra il letto sedimentato e l'adattatore passa fra l'O-ring dell'adattatore e la parete della colonna. Durante questa operazione, il letto inizia ad innalzarsi. Arrestare l'abbassamento dell'adattatore quando si trova a 0,5–1 cm sopra il letto.

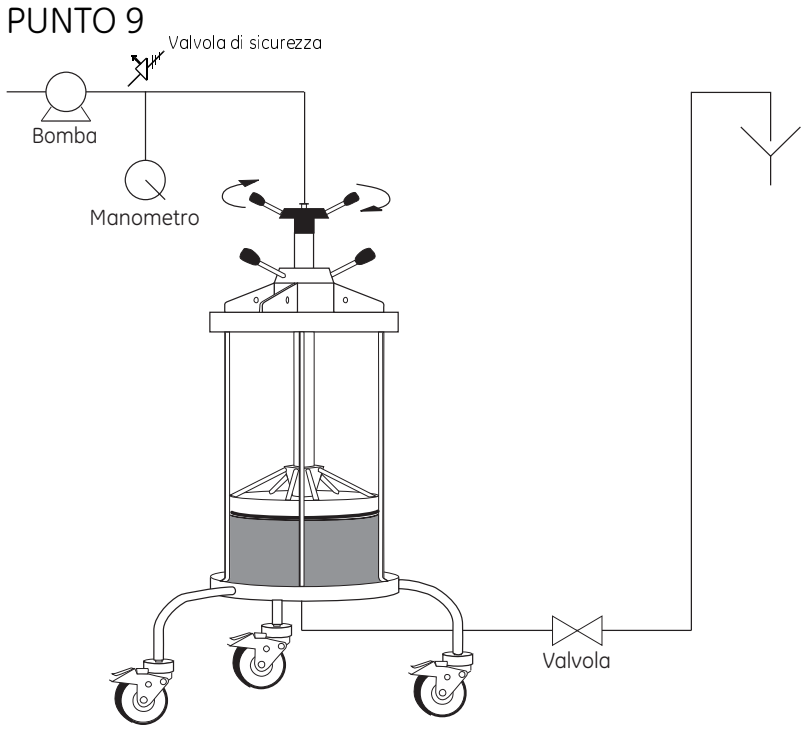


**Fig 5-12.** Metodo di impaccaggio della colonna, punto 9.

**PUNTO 9**

a. Sigillare l'O-ring dell'adattatore girando in senso orario la manopola (BPG 100, 140 e 200) o la manopola del regolatore di tenuta (BPG 300 e 450).

b. Aprire la valvola inferiore.

c. Avviare la pompa.

d. Regolare la velocità di flusso alla velocità del flusso di impaccaggio. Controllare il manometro per verificare che la pressione non superi la pressione massima della fase stazionaria (fare riferimento al manuale utente della realtiva fase stazionaria). Il letto verrà compresso di nuovo al livello del contrassegno sulla colonna (eseguito al punto 7).

e. Ripetere i passi 7 e 8 fino a quando l'adattatore raggiunge il contrassegno sulla colonna.

***Nota:*** *Quando vi è un massimo di 1 cm. di liquido rimasto, non aprire l'O-ring dell'adattatore. Usare invece la manopola del regolatore di altezza per avvitare l'adattatore in modo che si abbassi dell'ultimo centimetro rimasto. Ora abbassare l'adattatore per un massimo di 5 mm nel letto. Scollegare il tubo sulla parte superiore della colonna in modo che il tampone in eccesso venga eliminato attraverso la parte superiore dell'adattatore.*

Con ciò si conclude la procedura d'impaccaggio della colonna. Lavare qualsiasi traccia di tampone o di sospensione di resina rimasti sulla parte superiore dell'adattatore. Lo spazio fra la testa dell'adattatore e la parte superiore della colonna deve essere asciutto e pulito o riempito con soluzione di etanolo al 20% per impedire crescita batterica.

***Nota:*** *Prima di usare la colonna, verificare sempre le prestazioni della colonna impaccata. Fare riferimento alle istruzioni per questa procedura nella seguente sezione 5.2.*

## *5.2 Valutazione della colonna*

L'efficienza di una colonna dipende da come è stata impaccata. Una colonna con un impaccaggio di qualità insufficiente dà origine ad un flusso disomogeneo con conseguente ampliamento del picco e riduzione della risoluzione. È quindi importante avere un metodo in base al quale la colonna possa essere testata prima che sia messa in funzione. Il metodo dovrà essere semplice, quantitativo e non dovrà consentire l'introduzione di materiali contaminanti. È inoltre un vantaggio se lo stesso metodo potrà essere usato per monitorare le prestazioni della colonna durante il suo ciclo di vita in modo che sia facile determinare il momento in cui reimpaccare o sostituire la fase stazionaria.

I metodi che utilizzano composti colorati, come ad esempio Blue Dextran, vanno evitati poiché non soddisfano i criteri di cui sopra e non possono essere usati con le fasi stazionarie per cromatografia a scambio ionico o di affinità.

L'esperienza ha dimostrato che il migliore metodo per esprimere l'efficienza di una colonna è in termini di altezza equivalente ad un piatto teorico, HETP, e di fattore di asimmetria del picco, $A_s$. Questi valori possono essere facilmente determinati applicando alla colonna un campione di soluzione di NaCl o di acetone.

È importante che la colonna sia adeguatamente equilibrata prima che l'impaccaggio sia valutato (2 volumi di colonna). È preferibile ripetere per 3 volte il test in modo da verificare la stabilità dei risultati. Se un risultato insufficiente migliora durante l'esecuzione di questo test, il motivo potrebbe essere una scarsa equilibrazione della colonna. Per controllare che il letto sia stabile, operare la colonna al 70% della pressione di impaccaggio per 20 ore e testarla di nuovo (preferibilmente con tre sedute di test).

Da notare che i picchi di pressione producono un impaccaggio di scarsa qualità (cracking). Se ciò si verifica, inserire fra la pompa e la colonna una trappola d'aria e una valvola di sicurezza. La valvola di sicurezza va posta fra la trappola dell'aria e la colonna.

### 5.2.1 Scelta del campione per il test delle colonne

Il materiale più adatto per effettuare il test delle colonne è naturalmente il campione che deve essere con la colonna stessa, ma ciò non sempre è fattibile ed economico. Come alternativa, si potrà usare una soluzione di acetone o di NaCl per ottenere una buona indicazione della qualità di impaccaggio della colonna. L'eluato viene monitorato misurando la conducibilità o l'assorbimento UV ed il profilo di eluzione che ne risulta viene usato per calcolare il valore di HETP.

Il vantaggio di usare una soluzione di NaCl è che è subito disponibile e può essere usata con sicurezza per testare tutte le colonne. Uno svantaggio è rappresentato dal fatto che il NaCl potrebbe interagire con la matrice della fase stazionaria, soprattutto con le matrici di scambiatori ionici, dando quindi risultati non corretti.

L'acetone tuttavia non interagisce con la matrice e viene rilevato con assorbimento UV a 280. In alternativa, si può aumentare la concentrazione del tampone di 10 volte e usarlo come soluzione per il test.

La seguente Figura 5-13 A mostra un tracciato UV di acetone in una tipica applicazione di una colonna BPG e fornisce i valori calcolati di HETP e di $A_s$.

Colonna: BPG 300
Fase stazionaria: Sepharose 6 Fast Flow
Altezza del letto: 57,5 cm
Volume del letto: 40,6 litri
Eluente: Acqua bidistillata
Campione: 1,05 litri
(acetone all'1%, NaCl all'1%)
Velocità di flusso: 19 cm/h
$V_e$ = 18,8
$W_h$ = 0,9
HETP = 0,024 cm
a = 0,90
b = 0,85
b/a = 0,85/0,90
$A_s$ = 0,94

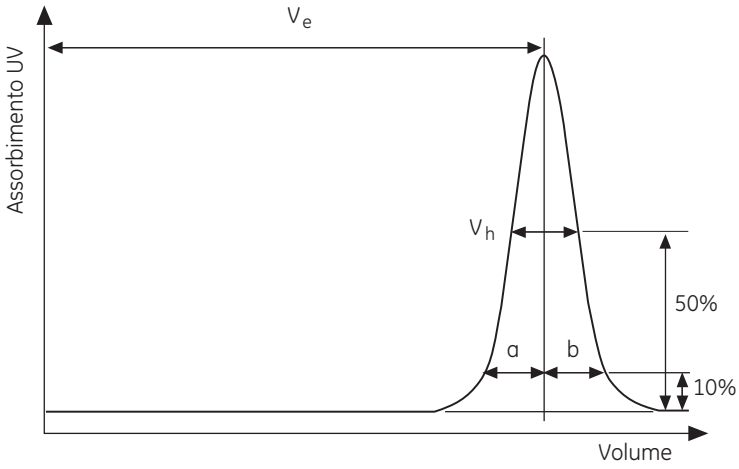


**Fig 5-13.** Cromatogramma del test con calcoli HETP e $A_s$.

### 5.2.2 Calcolo HETP

Quando si usa un tampone con una forte capacità tamponante, il volume del campione dovrebbe essere circa 1% del volume totale di fase stazionaria e la concentrazione di NaCl dell'1,0% v/v. In alternativa si può usare acetone all'1,0%.

La velocità di flusso lineare dovrebbe essere di 30 cm/h per fasi stazionarie da 34 µm e 50 µm e di 20 cm/h per fasi stazionarie da 90 µm. Per evitare la diluizione del campione, applicarlo il più vicino possibile all'ingresso della colonna. Se nel sistema viene inclusa una trappola d'aria, durante l'applicazione del campione questa andrà bypassata per evitare la diluizione. Calcolare il valore HETP dalla curva della conducibilità (o UV) nel seguente modo:

HETP, nei suoi termini più semplici, è espresso da:

**HETP = L/N**

in cui:

**L** = Altezza del letto (cm)

**N** = Numero di piatti teorici.

N è definito dalla seguente equazione:

$\mathbf{N} = 5{,}54\ (V_e / W_h)^2$

in cui:

$\mathbf{V_e}$ = Volume di eluzione (ml)

$\mathbf{W_h}$ = Ampiezza del picco a metà altezza (ml)

$\mathbf{V_e}$ è espresso come il volume passato attraverso la colonna dalla metà dell'applicazione del campione al massimo del picco.

$\mathbf{W_h}$ è espressa come ampiezza a metà altezza del picco (dalla base verso l'alto).

Dall'esempio in Figura 5-13, il valore HETP può essere calcolato dal cromatogramma nel seguente modo:

**Tabella 5-3.** Calcolo del valore HETP.

| | $V_e$ (ml) | $W_h$ (ml) | N | N/m | cm HETP |
|---|---|---|---|---|---|
| Acetone | 18800 | 900 | 2417 | 4203 | 0,024 |

Colonne impaccate correttamente avranno valori HETP bassi. Tuttavia, è possibile confrontare solo colonne che siano state impaccate con lo stesso tipo di fase stazionaria e che siano state testate nelle stesse identiche condizioni.

Come regola generale, un buon valore HETP è approssimativamente da 2 a 4 volte il valore del diametro medio delle particelle della fase stazionaria che si sta utilizzando, a condizione che il campione non interagisca con la fase stazionaria.

In pratica, la correlazione fra il valore HETP e la prestazione della colonna può essere valutata solo dall'utilizzatore della colonna. Una volta che questa è stabilita, si potrà definire uno standard in base al quale valutare l'accettabilità dell'impaccaggio di una colonna.

Per esempio, l'utilizzatore della colonna potrebbe riconoscere che una colonna impaccata con Sephadex G-25 Media e con valori di HETP oltre 0,05 cm non è capace di garantire la separazione necessaria. Conseguentemente, l'utilizzatore della colonna imposterà questo valore su quello massimo ammesso, cioè al minimo livello di qualità accettabile.

### 5.2.3 Calcolo del fattore di asimmetria del picco

La forma del picco deve essere il più possibile simmetrica. In genere questo vale per la fase stazionaria di gel filtrazione, ma per certi scambi ionici e fasi stazionarie di affinità la forma potrebbe risultare asimmetrica a causa dell'interazione con la fase stazionaria.

Un cambio nella forma del picco in genere è la prima indicazione di deterioramento della colonna. Il fattore di asimmetria del picco deve essere il più possibile vicino a 1.

Il fattore di asimmetria del picco, $A_s$, è calcolato dal grafico in Figura 5-13 nel seguente modo:

$$A_s = b/a$$

in cui:

**a** = distanza fra l'apice del picco fino al 10% dell'altezza del picco sul lato ascendente del picco stesso

**b** = distanza fra l'apice del picco fino al 10% dell'altezza del picco sul lato discendente del picco stesso

***Nota:*** *La misura dei valori HETP e $A_s$ è il metodo migliore per valutare la condizione della colonna impaccata. Una colonna impaccata può avere un buon aspetto, ma nonostante ciò potrebbe essere necessario un reimpaccaggio per garantire una prestazione ottimale. Per assicurare una prestazione ottimale della colonna, controllare sempre la colonna dopo l'impaccaggio e in modo regolare dopo un certo numero di corse.*

# 6 Abbreviazioni

Le abbreviazioni usate in questo manuale sono definite come segue:

| | |
|---|---|
| $A_s$ | Fattore di asimmetria del picco |
| CIP | Cleaning-in-place |
| EPDM | Etilene propilene |
| FEP | Fluroetenpropene |
| FF | Fast Flow |
| HETP | Height equivalent to a theoretical plate (altezza equivalente ad un piatto teorico) |
| HR | High resolution (alta risoluzione) |
| ID | Internal diameter (diametro interno) |
| IEX | Ion exchange chromatography (cromatografia a scambio ionico) |
| L | Altezza del letto |
| N | Numero di piatti teorici. |
| PA | Poliamide |
| PEEK | Polietereterchetone |
| POM | Plastica acetale |
| PP | Polipropilene |
| PTFE | Politetrafluoroetene |
| PVC | Polivinilcloruro |
| THF | Tetraidrofurano |
| UV | Ultravioletto |
| $V_e$ | Volume di eluzione |
| $W_h$ | Ampiezza del picco a metà altezza del picco |
| PFR | Gomma perfluorica |
| FPM | Gomma fluorcarbone |

**Tabella A-1:** Componenti delle colonne BPG 100, 140 e 200. I numeri delle voci fanno riferimento alle Figure A-1 e A-2.

| Parte n. | Descrizione | Materiale | A contatto con i liquidi di processo | Quantità/ confezione | BPG 100 Numero di codice | BPG 140 Numero di codice | BPG 200 Numero di codice |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Column tube 500<br>Column tube 750<br>Column tube 950 | Borosilicate glass<br>Borosilicate glass<br>Borosilicate glass | X<br>X<br>X | 1<br>1<br>1 | 18-0251-01<br>18-0251-02<br>18-0251-03 | 18-1112-95<br>-<br>18-1112-96 | 18-1152-01<br>18-1152-02<br>18-1152-03 |
| 2 | Rod for tube 500<br>Rod for tube 750<br>Rod for tube 950 | 316<br>316<br>316 | | 1<br>1<br>1 | 18-1105-80<br>18-1105-81<br>18-1105-82 | 18-1105-83<br>-<br>18-1105-85 | 18-1105-83<br>18-1105-84<br>18-1105-85 |
| 3 | Guide ring | PTFE | | 1 | 18-0251-22 | 18-1112-97 | 18-0252-22 |
| 4 | Net, 54 µm, end-piece<br>Net, 23 µm, end-piece<br>Net, 10 µm, end-piece<br>Net, 12 µm, end-piece | PP<br>PP<br>PA<br>PEEK | X<br>X<br>X<br>X | 2<br>2<br>2<br>2 | 18-1126-97<br>18-9252-01<br>18-0251-77<br>18-1148-38 | 18-1126-99<br>18-1113-00<br>18-1113-02<br>18-1148-40 | 18-1127-01<br>18-9254-01<br>18-0252-77<br>18-1148-42 |
| 5 | Support net, end-piece | PP | X | 2 | 18-0251-55 | 18-1112-98 | 18-0252-55 |
| 6 | Flange O-ring | EPDM | X | 2 | 18-8494-01 | 18-1113-06 | 18-8489-01 |
| 7 | Flange O-ring | FEP | X | 1 | 18-0019-41 | 18-1113-07 | 18-0019-51 |
| 8 | Nut, M6<br>Nut, M8 | 316<br>316 | | 5<br>5 | 19-1582-01<br>- | -<br>19-0763-01 | -<br>19-0763-01 |
| 9 | Cup spring washer | 316 | | 4 | 18-8482-01 | 18-8482-01 | 18-8482-01 |
| 10 | Flange | 316 | | 1 | 18-1134-21 | 18-1113-21 | 18-1134-22 |
| 11 | Column cantering dowel | PTFE | | 8 | 18-1134-21 | - | 18-1134-22 |
| 12 | End-piece | 316L | X | 1 | 18-1144-18 | 18-1113-20 | 18-1112-62 |
| 13 | Bolt, M8 x 12 | 316 | | 4 | - | 18-1113-28 | 18-1113-28 |
| 14 | Washer | 316 | | 4 | 18-1143-26 | 18-1113-29 | 18-1113-29 |
| 15 | Stand, complete | 316L | | 1 | 18-1031-10 | 18-1031-20 | 18-1031-20 |
| 16 | Clamp, 25 mm | 304 | | 1 | 18-1001-31 | 18-1001-31 | 18-1001-31 |
| 17 | Adjusting knob | PEEK | | 1 | 18-1109-27 | 18-1109-27 | 18-1109-27 |
| 18 | Domed nut | 316 | | 4 | 18-1143-25 | 18-1113-27 | 18-1113-27 |
| 19 | Adjuster nut, body | 316 | | 1 | 11-0003-01 | 18-1113-26 | 18-1113-26 |
| 20 | Bushing ring | POM | | 2 | 18-0264-01 | 18-0267-01 | 18-0267-01 |
| 21 | Top plate | 316 | | 1 | 18-1143-24 | 18-1113-24 | - |
| 22 | Adjuster nut, insert | PEEK | | 1 | 18-0251-20 | 18-0252-20 | 18-0252-20 |
| 23 | Allen screw, M8 x 45 | 316 | | 5 | 19-6375-01 | 19-6375-01 | 19-6375-01 |
| 24 | Allen screw, M4 x 14 | 316 | | 5 | 19-6356-01 | 19-6356-01 | 19-6356-01 |
| 25 | Stopper | 316 | | 1 | - | 18-1113-25 | 18-1113-25 |
| 26 | Adaptor head screw | 316 | | 3 | 18-8457-01 | 18-8457-01 | 18-8457-01 |
| 27 | Sealing unit | 316L | | 1 | 18-1147-47 | 18-1113-31 | 18-1147-48 |
| 28 | Adaptor O-ring | EPDM | X | 2 | 18-8475-01 | 18-1113-10 | 18-0275-01 |
| 29 | Adaptor O-ring | FEP | X | 1 | 18-0019-40 | 18-1113-11 | 18-0019-50 |
| 30 | Inner adaptor tube | 316 | | 1 | 18-1113-23 | 18-1113-23 | 18-1113-23 |
| 31 | Outer adaptor tube | 316 | | 1 | 18-1134-83 | 18-1134-83 | 18-1134-83 |
| 32 | Screw, M6 x 12 | 316L/PTFE | | 3 | 18-1145-08 | 18-1145-08 | 18-1145-08 |
| 33 | Spring | 316/PTFE | | 1 | 18-8491-01 | 18-8491-01 | 18-8491-01 |
| 34 | Adaptor plate** | S31803*** | X | 1 | 18-1112-80 | 18-1113-30 | 18-1112-81 |
| 35 | Support net, adaptor | PP | X | 2 | 18-1103-04 | 18-1112-99 | 18-0252-56 |
| 36 | Net, 54 µm adaptor<br>Net, 23 µm adaptor<br>Net, 10 µm adaptor<br>Net, 12 µm adaptor | PP<br>PP<br>PA<br>PEEK | X<br>X<br>X<br>X | 2<br>2<br>2<br>2 | 18-1126-96<br>18-1103-08<br>18-1103-05<br>18-1148-37 | 18-1126-98<br>18-1113-01<br>18-1113-03<br>18-1148-39 | 18-1127-00<br>18-9253-01<br>18-0252-76<br>18-1148-41 |
| 37 | Gasket 25 mm | EPDM | X | 2 | 18-0019-27 | 18-0019-27 | 18-0019-27 |
| 38 | Feet, stand | 316 | | 1 | 18-1126-93 | 18-1126-93 | 18-1126-93 |
| 39 | Wheel | - | | 3 | 18-1001-09 | 18-1001-09 | 18-1001-09 |
| 40 | 4-port, 2-way valve | 316L/PTFE | X | 1 | 18-5757-01 | 18-5757-01 | 18-5757-01 |
| 41 | Tubing* | - | X | 1 | - | - | - |
| 42 | Washer | PP | | 1 | 18-1142-79 | NA | NA |
| 43 | Washer | PP | | 1 | 18-1142-80 | 18-1142-80 | 18-1142-80 |

* Fare riferimento alla Tabella 3-3 nella BPG Maintenance Guide; ** Tubo, d.i.: 4 mm (BPG 100); 6 mm (BPG 140 e 200);
*** Paragonabile a 316L

**Tabella A-2:** Componenti delle colonne BPG 300. I numeri delle voci fanno riferimento alle Figure A-3 e A-4.

| Parte n. | Descrizione | Numero di codice | Materiale | A contatto con i liquidi di processo | Quantità/ confezione |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Adaptor top plate | 18-1012-48 | 316 | | 1 |
| 2 | Nut, M12 | 18-1012-24 | 316 | | 6 |
| 3 | Cup spring washer | 18-1012-25 | 316 | | 6 |
| 4 | Nut, M10 | 18-1012-44 | 316 | | 5 |
| 5 | Flange | | 316 | | |
| 6 | O-ring, 301 x 6 mm | 18-1012-26 | EPDM | X | 2 |
| 7 | O-ring, 301 x 6 mm | 18-1012-27 | FEP | X | 1 |
| 8 | Rod for T300/500<br>Rod for T300/750<br>Rod for T300/950 | 18-1012-31<br>18-1012-32<br>18-1012-33 | 316<br>316<br>316 | | 1<br>1<br>1 |
| 9 | Column tube T300/500<br>Column tube T300/750<br>Column tube T300/950 | 18-1012-28<br>18-1012-29<br>18-1012-30 | Borosilicate glass<br>Borosilicate glass<br>Borosilicate glass | X<br>X<br>X | 1<br>1<br>1 |
| 10 | Net, 23 µm, endpiece | 18-1012-34 | PP | X | 2 |
| 11 | Net, 10 µm, endpiece<br>Net, 12 µm, endpiece<br>Net, 54 µm, endpiece | 18-1012-35<br>18-1148-44<br>18-1127-03 | PA<br>PEEK<br>PP | X<br>X<br>X | 2<br>2<br>2 |
| 12 | Support net, endpiece | 18-1012-36 | PP | X | 2 |
| 13 | Distribution plate | 18-1012-37 | PP | X | 2 |
| 14 | Endpiece | 18-1140-47 | 316L | X | |
| 15 | Gasket, 25 mm, i.d. 10 mm | 18-0200-00 | EPDM | X | 5 |
| 16 | Gasket, 25 mm, i.d. 10 mm | 18-1012-40 | PTFE | X | 5 |
| 17 | Connector 25 mm/10 mm* | - | PP | X | 2 |
| 18 | 4-port, 2-way manual valve | 18-1012-56 | 316L/PTFE | X | 1 |
| 19 | Stand, complete | 18-1012-38 | 316L | | - |
| 20 | Washer | 18-1012-61 | 316 | | 6 |
| 21 | Bolt, M12 x 25 | 18-1012-65 | 316 | | 6 |
| 22 | Wheel | 18-1001-09 | - | | 1 |
| 23 | Seal adjuster | 18-1012-41 | PEEK | | 1 |
| 24 | Adaptor height adjuster | 18-1128-31 | 316 | | 1 |
| 25 | Bushing ring | 18-1012-42 | POM | | 2 |
| 26 | Adaptor top plate | 18-1129-06 | 316L | | - |
| 27 | Nut, M10 | 18-1012-44 | 316 | | 5 |
| 28 | Stop screw, complete | 18-1012-43 | 316/POM | | 1 |
| 29 | Adjuster nut, insert | 18-1012-45 | PEEK | | 1 |
| 30 | Sealing unit | 18-1147-50 | 316L | | - |
| 31 | Adaptor head screw, M8 | 18-1012-46 | 316 | | 3 |
| 32 | Allen screw, M8 x 60 | 18-1012-47 | 316 | | 5 |
| 33 | O-ring, 274 x 8 mm | 18-1012-51 | EPDM | X | 2 |
| 34 | O-ring, 274 x 8 mm | 18-1012-52 | FEP | X | 1 |
| 35 | Inner adaptor tube | 18-1147-83 | 316 | | |
| 36 | Outer adaptor tube | 18-1142-93 | 316L | | 1 |
| 37 | Screw, M8 x 16 | 18-1145-10 | 316L/PTFE | | 5 |
| 38 | Spring | 18-1012-50 | 316/PTFE | | 1 |
| 39 | Adaptor plate** | 18-1112-82 | S31803*** | X | 1 |
| 40 | Support net, adaptor | 18-1012-53 | PP | X | 2 |
| 41 | Net, 23 µm, adaptor | 18-1012-54 | PP | X | 2 |
| 42 | Net, 10 µm, adaptor<br>Net, 12 µm, adaptor<br>Net, 54 µm, adaptor | 18-1012-55<br>18-1148-43<br>18-1127-02 | PA<br>PEEK<br>PP | X<br>X<br>X | 2<br>2<br>2 |
| 43 | Tubing* | - | PVC | X | |
| 44 | Clamp, 25 mm | 18-1001-31 | 304 | | 1 |
| 45 | Wheel support | 18-1033-33 | POM/316 | | 1 |

* Vedi Tabella 3-4 nel BPG Maintenace Guide; ** Tubo, d.i.: 10 mm; *** Paragonabile a 316L

**Tabella A-3:** Componenti delle colonne BPG 450 I numeri delle voci fanno riferimento alla figura A-5.

| Parte n. | Descrizione | Numero di codice | Materiale | A contatto con i liquidi di processo | Quantità/ confezione |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Endpiece | 18-1109-67 | 316L | X | 1 |
| 2 | Support net, endpiece | 18-1104-35 | PP | X | 1 |
| 3 | Flange | 18-1109-68 | PP/316 | X | 1 |
| 4 | U-shaped seal<br>U-shaped seal | 18-1104-40<br>18-1117-55 | EPDM<br>PFR | X<br>X | 1<br>1 |
| 5 | Net, 54 µm, endpiece<br>Net, 23 µm, endpiece<br>Net, 10 µm, endpiece<br>Net, 12 µm, endpiece | 18-1127-05<br>18-1103-19<br>18-1103-18<br>18-1148-46 | PP<br>PP<br>PA<br>PEEK | X<br>X<br>X<br>X | 1<br>1<br>1<br>1 |
| 6 | Flange O-ring 446 x 6<br>Flange O-ring 446 x 6 | 18-1105-33<br>18-1117-67 | EPDM<br>FEP | X<br>X | 2<br>1 |
| 7 | Allen screw M8 x 50 | 18-1109-40 | 316 | | 5 |
| 8 | Rod BPG 450/500<br>Rod BPG 450/750<br>Rod BPG 450/1000 | 18-1106-18<br>18-1103-09<br>18-1103-10 | 316<br>316<br>316 | | 1<br>1<br>1 |
| 9 | Sealing unit | 18-1109-69 | 316L | | 1 |
| 10 | Pin bolt | 18-3001-07 | 316 | | 3 |
| 11 | Stop screw | 19-4363-01 | 316 | | 2 |
| 12 | Glass tube BPG 450/500<br>Glass tube 450/750<br>Glass tube 450/1000 | 18-1103-14<br>18-1103-15<br>18-1103-16 | Borosilicate glass<br>Borosilicate glass<br>Borosilicate glass | X<br>X<br>X | 1<br>1<br>1 |
| 13 | Revolving stop cap | 18-1107-43 | POM | | 1 |
| 14 | Revolving stop | 18-1109-41 | 316L | | 1 |
| 15 | Screw M8 x 50 | 18-1109-40 | 316 | | 5 |
| 16 | Spacer | 18-1109-42 | 316L | | 1 |
| 17 | Lid | 18-1109-70 | 316 | | 1 |
| 18 | Bushing ring | 18-1109-43 | PP | | 2 |
| 19 | Adaptor height adjuster | 18-1109-44 | POM | | 1 |
| 20 | Handle | 18-1109-45 | 316 | | 1 |
| 21 | Nut flange | 18-1109-46 | PEEK | | 1 |
| 23 | Seal adjuster | 18-1109-47 | PEEK | | 1 |
| 24 | Handle | 18-1109-48 | 316 | | 1 |
| 25 | Knob | 18-1109-49 | PP | | 1 |
| 26 | Screw M10 x 65 | 18-1109-50 | 316 | | 2 |
| 27 | Washer 10.5 x 20 | 18-1109-51 | 316 | | 10 |
| 28 | Domed nut M10 and washer | 18-1103-20 | 316 | | 1 |
| 29 | Adaptor screw | 18-1109-54 | 316L | | 1 |
| 30 | Adjustment tube | 18-1109-55 | 316 | | 1 |
| 31 | Inlet tube i.d. 12 mm | 18-1109-53 | 316L | X | 1 |
| 32 | O-ring 12.3 x 2.4<br>O-ring 12.3 x 2.4 | 18-1103-70<br>18-1117-65 | EPDM<br>FEP | X<br>X | 2<br>1 |
| 33 | Screw M4 x 16 | 18-1109-56 | 316 | | 2 |
| 34 | Spring | 18-1107-44 | 316/PTFE | | 1 |
| 35 | Screw M5 x 10 | 18-1109-57 | 316 | | 2 |
| 36 | Snap plug | 18-1107-45 | PP | X | 2 |
| 38 | Adaptor plate | 18-1109-71 | S31803* | X | 1 |
| 39 | Screw M8 x 25 | 18-1145-12 | 316L/PTFE | | 3 |
| 40 | O-ring 419 x 10<br>O-ring 419 x 10 | 18-1017-47<br>18-1117-66 | EPDM<br>FEP | X<br>X | 1<br>1 |
| 41 | Distributor plate | 18-1106-04 | PP | X | 2 |

* Paragonabile a 316L

(continua nella prossima pagina)

Componenti delle colonne BPG 450 (continua)

| Parte n. | Descrizione | Numero di codice | Materiale | A contatto con i liquidi di processo | Quantità/ confezione |
|---|---|---|---|---|---|
| 42 | Adaptor support net | 18-1104-34 | PP | X | 1 |
| 43 | Net 54 µm adaptor<br>Net 23 µm adaptor<br>Net 10 µm adaptor<br>Net 12 µm adaptor | 18-1127-04<br>18-1001-62<br>18-1017-46<br>18-1148-45 | PP<br>PP<br>PA<br>PEEK | X<br>X<br>X<br>X | 1<br>1<br>1<br>1 |
| 44 | Screw M10 x 80 | 18-1109-59 | 316 | | 2 |
| 45 | Screw M10 x 16 | 18-1109-60 | 316 | | 2 |
| 46 | Bracket | 18-1109-61 | 316 | | 1 |
| 47 | Screw M5 x 16 | 18-1109-62 | 316 | | 2 |
| 48 | Bottom inlet tube | 18-1109-63 | 316L | X | 1 |
| 50 | Allen screw M10 x 40 | 18-1109-65 | 316 | | 2 |
| 51 | Leg | 18-1109-66 | 316 | | 1 |
| 52 | Wheel support | 18-1107-46 | POM/316 | | 1 |
| 53 | Wheel<br>Eye bolt | 18-1177-75<br>18-1109-64 | | | 1<br>1 |
| 54 | Adaptor stopper | 18-1115-18 | 316 | | 1 |

# Indice


**A**

assemblaggio
- colonne 100, 140 e 200 ... 17
- colonne 300 ... 23
- colonne 450 ... 28

assemblaggio dell'adattatore
- colonne 100, 140 e 200 ... 21
- colonne 300 ... 26
- colonne 450 ... 30

assemblaggio della colonna
- colonne 100, 140 e 200 ... 19
- colonne 300 ... 24
- colonne 450 ... 28

**C**

calcoli di asimmetria del picco ... 49
calcolo HETP ... 47
chemical resistance ... 11
colonna
- assemblaggio e smontaggio ... 17
- componenti di base ... 1
- disimballaggio ... 7
- impaccaggio ... 33
- installazione ... 17
- materiali ... 10
- metodo consigliato per l' impaccaggio della colonna ... 41
- numeri di codice dei tubi e dei supporti ... 7
- perdita ... 17
- principi di funzionamento ... 33
- quantità di componenti forniti ... 7
- scelta del campione del test ... 47
- smaltimento ... 5
- terra ... 31
- test di tenuta ... 17
- valutazione ... 46

connettori ... 31
curve della velocità di flusso ... 12

**D**

determinazione della velocità di flusso di impaccaggio ... 35
disimballaggio della colonna ... 7

**E**

estensione
- montaggio su colonne 300 ... 27
- montaggio su colonne 450 ... 30
- montaggio sulle colonne 100, 140 e 200 ... 22

estensione di impaccaggio
- posizione dei componenti ... 22

**F**

filo guida
- curve ... 12

I
impostazioni della chiave tensiometrica
colonne 100, 140 e 200 ... 21
colonne 300 ... 26
colonne 450 ... 29
Informazioni generali ... 1
installazione della colonna ... 17

M
marchio CE ... 3
messa a terra della colonna ... 31
montaggio di un'estensione
colonne 100, 140 e 200 ... 22
colonne 300 ... 27
colonne 450 ... 30

N
note ... 4
note di attenzione ... 4
note di avvertenza ... 4
numeri di codice
tubi e supporti colonna ... 7

O
operatori autorizzati ... 5

Q
quantità di fase stazionaria ... 34

R
raccomandate
dimensioni di net ... 34
velocità di flusso d'impaccaggio ... 41
resistenza chimica ... 4, 10

S
scelta del campione del test per colonne ... 47
sicurezza ... 3
atmosfere esplosive ... 4
marchio EX ... 4
smaltimento della colonna ... 5
smontaggio dell'adattatore
colonne 100, 140 e 200 ... 21
colonne 300 ... 26
colonne 450 ... 29
stoccaggio ... 5

T
test di tenuta ... 32
test di tenuta della colonna ... 17

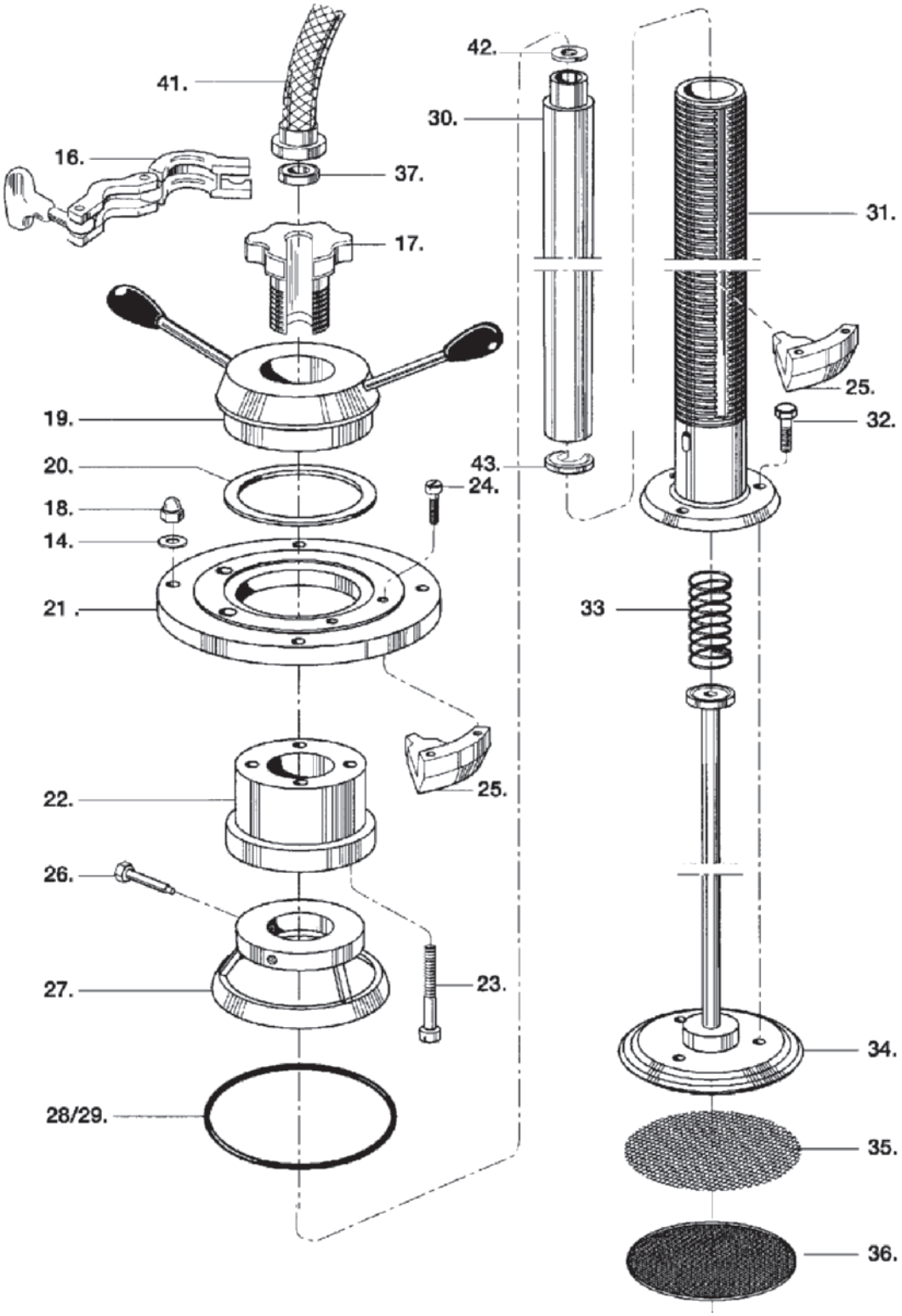


**Fig. A-1.** Identificazione delle parti delle colonne BPG 100, 140 e 200.

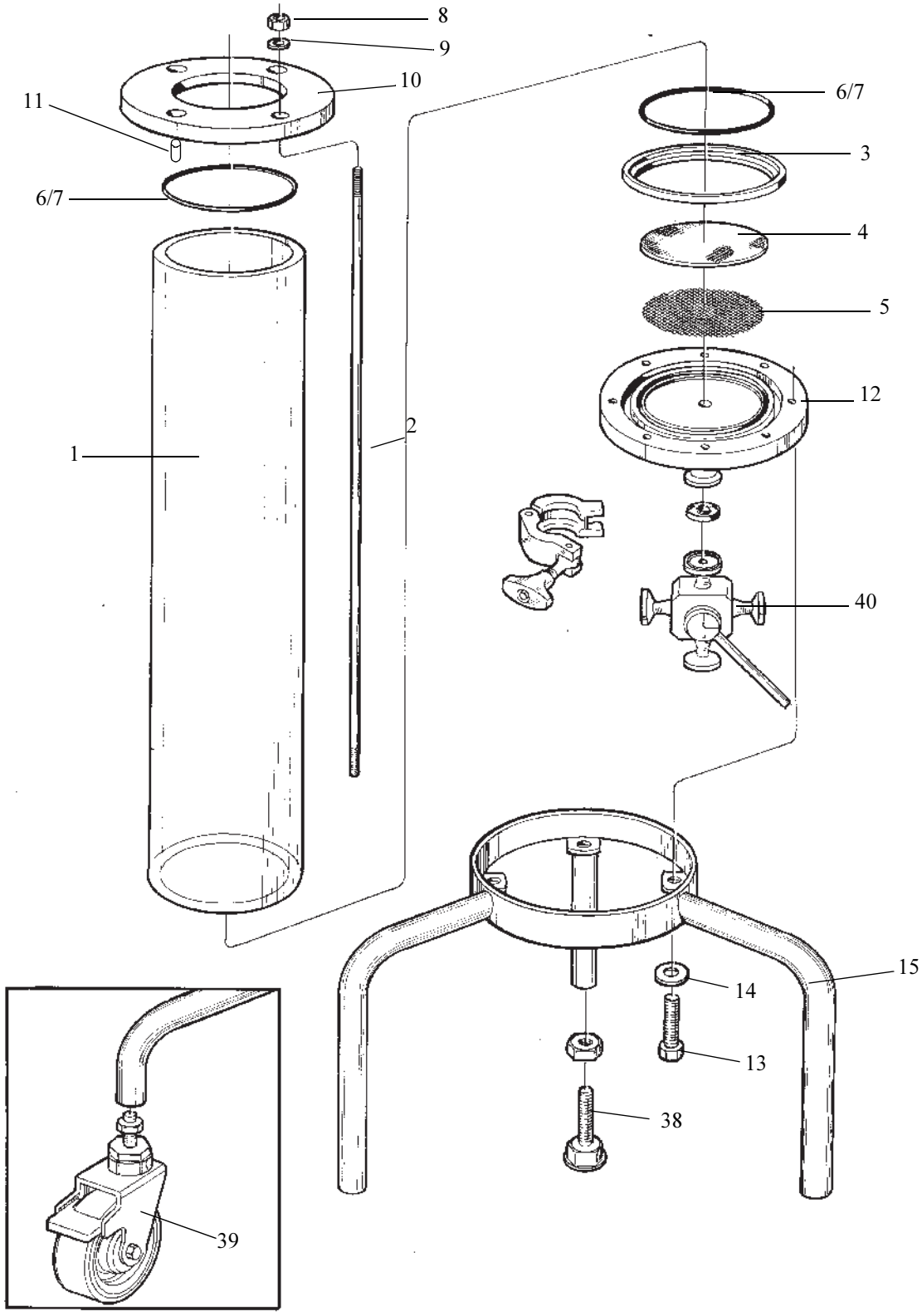


**Fig. A-2.** Identificazione delle parti delle colonne BPG 100, 140 e 200 (continua).

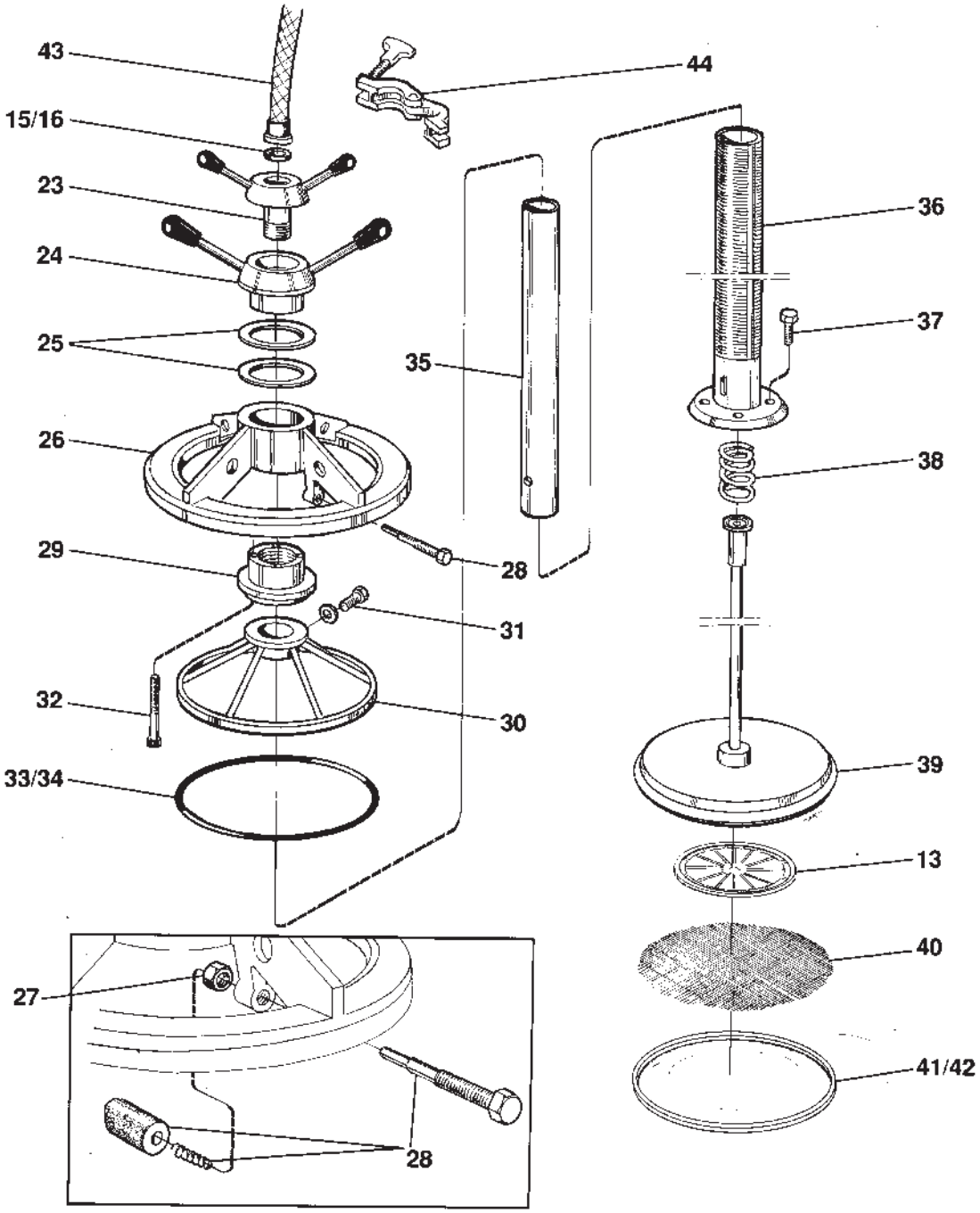


**Fig. A-3.** Identificazione delle parti della colonna BPG 300.

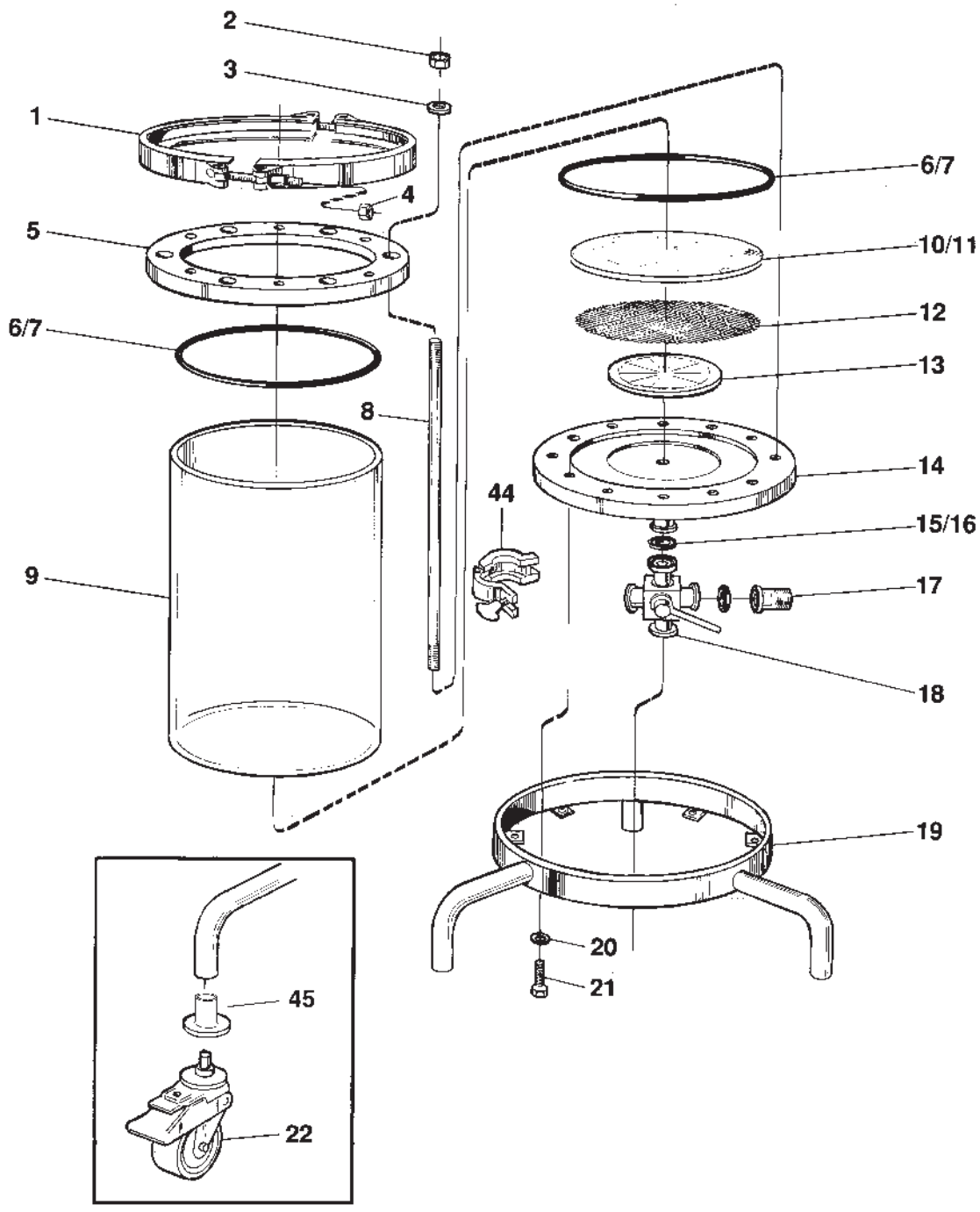


**Fig. A-4.** Identificazione delle parti della colonna BPG 300. (continua).

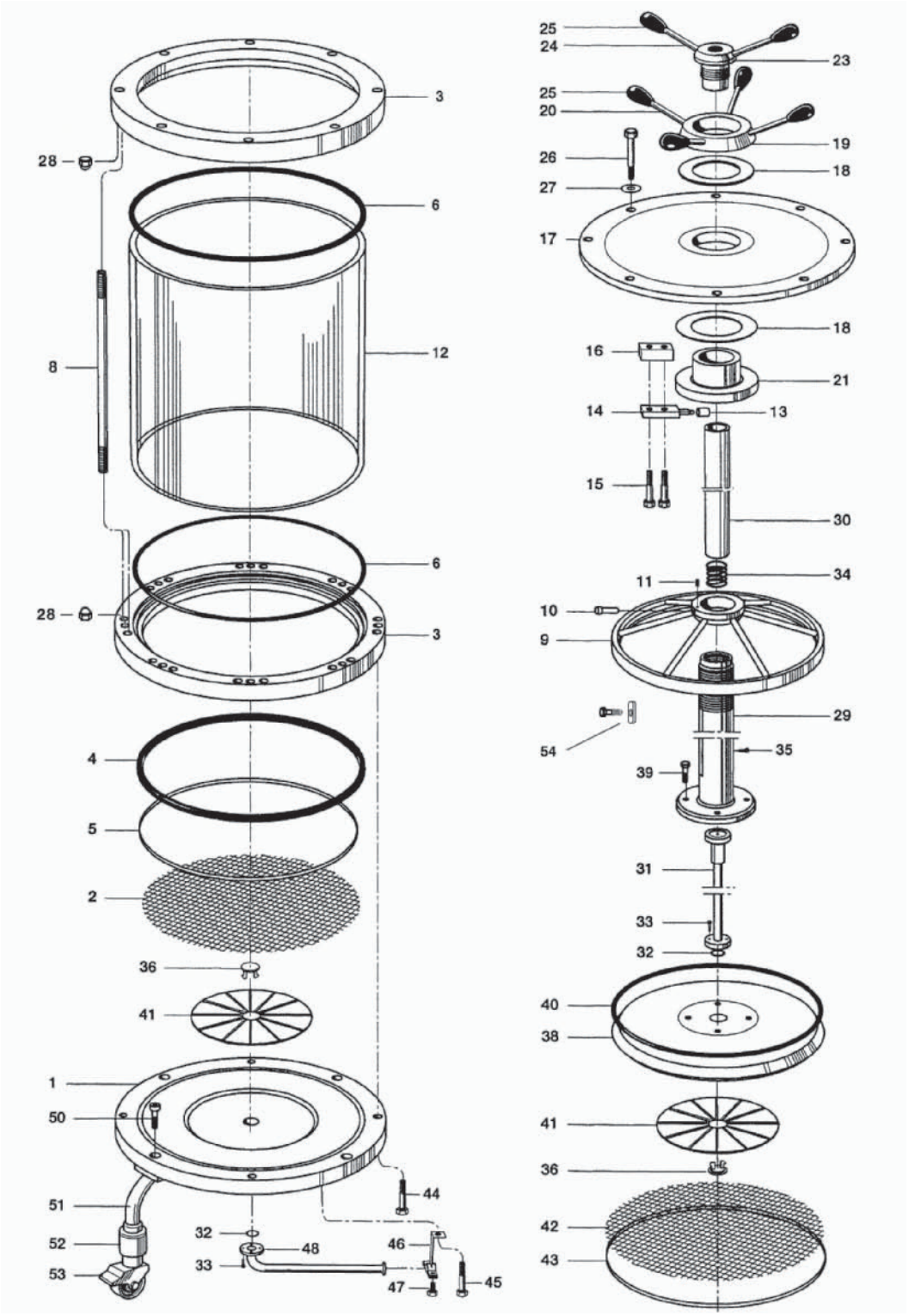


**Fig. A-5.** Identificazione delle parti della colonna BPG 450.

www.chromatography.
amershambiosciences.com

GE Healthcare
Amersham Biosciences AB
Björkgatan 30
SE-751 84 Uppsala
Sweden

BPG, Sepharose, Sephacryl, Sephadex, Superdex e Drop Design sono marchi registrati di Amersham Biosciences Limited. Amersham e Amersham Biosciences sono marchi registrati di Amersham plc. Teflon è un marchio registrato da E.I. du Pont de Nemours e Co. Triton è un marchio registrato di proprietà di Rohm & Haas Inc.

Ad ogni unità viene acclusa separatamente una Dichiarazione di Conformità alle Direttive Europee e agli standard armonizzati che sono in vigore per questo tipo di apparecchiatura. Indirizzi degli uffici.
Si prega di inviare qualsiasi commento su questo prodotto a:

© 2005 General Electric Company – Tutti i diritti riservati.

Amersham Biosciences AB, a General Electric company going to market as GE Healthcare.

GE Healthcare Amersham Biosciences AB
SE-751 84 Uppsala, Svezia

GE Healthcare Amersham Biosciences Europe GmbH
Munzinger Strasse 9, D-79111 Freiburg, Germania

GE Healthcare Amersham Biosciences UK Ltd
Amersham Place, Little Chalfont, Buckinghamshire, Inghilterra HP7 9NA

GE Healthcare Amersham Biosciences Corp
800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327, USA

GE Healthcare Amersham Biosciences KK
Sanken Bldg. 3-25-1, Hyakunincho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Giappone

GE Healthcare Amersham Biosciences China Limited
13/F., Tower I, Ever Gain Plaza, 88 Container Port Road, Kwai Chung,
New Territories, Hong Kong

Asia Pacific Tel: +852 2811 8693 Fax: +852 2811 5251 • Australasia Tel: + 61 2 9899 0999 Fax: +61 2 9899 7511 • Austria Tel: 01/57606-1619 Fax: 01/57606-1627 • Belgium Tel: 0800 73 888 Fax: 03 272 1637 • Canada Tel: 800 463 5800 Fax: 800 567 1008 • Central, East, & South East Europe Tel: +43 1 982 3826 Fax: +43 1 985 8327 • Denmark Tel: 45 16 2400 Fax: 45 16 2424 • Finland & Baltics Tel: +358-(0)9-512 39 40 Fax: +358 (0)9 512 39 439 • France Tel: 01 69 35 67 00 Fax: 01 69 41 96 77 • Germany Tel: 0761/4903-490 Fax: 0761/4903-405 • Italy Tel: 02 27 322 1 Fax: 02 27302 212 • Japan Tel: +81 3 5331 9336 Fax: +81 3 5331 9370 • Latin America Tel: +55 11 3933 7300 Fax: +55 11 3933 7304 • Middle East & Africa Tel: +30 210 9600 687 Fax: +30 210 9600 693 • Netherlands Tel: 0165 580 410 Fax: 0165 580 401 • Norway Tel: 815 65 555 Fax: 815 65 666 • Portugal Tel: 21 417 7035 Fax: 21 417 3184 • Russia & other C.I.S. & N.I.S Tel: +7 (095) 232 0250, 956 1137 Fax: +7 (095) 230 6377 • South East Asia Tel: 60 3 8024 2080 Fax: 60 3 8024 2090 • Spain Tel: 93 594 49 50 Fax: 93 594 49 55 • Sweden Tel: 018 612 1900 Fax: 018 612 1910 • Switzerland Tel: 0848 8028 12 Fax: 0848 8028 13 • UK Tel: 0800 616928 Fax: 0800 616927 • USA Tel: 800 526 3593 Fax: 877 295 8102

imagination at work

Istruzioni per l'uso 18-1170-70 AB

Elanders Tofters 2005